



Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Lisboa

Universidade Atlântica

O Impacto da Fase Pré-Analítica nos Resultados

De que modo a fase pré-analítica pode interferir nos resultados de um trabalho de investigação

Dissertação para a obtenção de grau de Mestre em Organização e Qualidade no Laboratório de Análises Clínicas

Berta Eunice M. D. Matos Silva

Orientadora: Prof^a Adelina Gomes

Lisboa
2013

Trabalho elaborado como dissertação original para efeito de obtenção do grau de Mestre em Organização e Qualidade no Laboratório de Análises Clínicas

Berta Eunice de Menezes Diniz Matos Silva

A orientadora da tese: Profr^a Adelina Gomes

*Dedico esta tese à memória da pessoa que
acreditou nas minhas capacidades profissionais e
sempre me apoiou.*

Agradecimento

Tenho que agradecer

Aos meus filhos e restante família pelo apoio que sempre me deram enquanto elaborei esta tese.

A todas as pessoas que de uma forma ou de outra contribuíram para que eu tivesse a possibilidade de crescer e aprender com as experiencias que me facultaram.

Ao grupo da Professora Doutora Maria João Gomes e Professora Doutora Cristina Barbara pela possibilidade de colaborar em estudos clínicos mesmo num momento difícil da minha vida pessoal acreditaram que seria um elemento capaz de me adaptar ao grupo e contribuir com as minhas capacidades nos trabalhos apresentados por este grupo de investigação.

As minhas amigas:

Alexandra Gomes, que sempre me incentivou a não desistir desta etapa.

Mónica uma jovem que embora tenha conhecido há tão pouco tempo se revelou uma excelente amiga com a sua colaboração.

Aos meus colegas da licenciatura e mestrado pela ajuda prestada.

E por último á minha orientadora Dra. Adelina Gomes que desde cedo me facultou informações que foram um pilar para a minha conduta profissional na qualidade dos procedimentos analíticos e que nesta etapa do mestrado me possibilitou e facultou informações que permitiram finalizar este trabalho.

Índice Geral

Índice de figuras e tabelas	Pag.7
Gráficos do estudo	Pag.8
Siglas e Abreviaturas	Pag.9
Resumo	Pag.11
Abstract	Pag.12
1. Objetivo do estudo	Pag.13
2. Introdução	Pag.14
3. Conteúdo profissional da Carreira de Técnico de Análises Clínicas e Saúde Pública	Pag.15
3.1 Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica e as suas competências profissionais	Pag.15
3.2 A Evolução do Saber Profissional	Pag.16
4. Introdução do primeiro capítulo	Pag.17
4.1. Evolução tecnológica do Laboratório de Análises Clínica	Pag.18
1955	Pag.18
1956	Pag.18
1957	Pag.19
1958	Pag.19
1959	Pag.20
1960	Pag.20
1961	Pag.21
1962	Pag.21
1963	Pag.22
1964	Pag.22
1965	Pag.23
1966	Pag.23
1967	Pag.24
1968	Pag.25
1969	Pag.25
1970	Pag.26
1971	Pag.26
1972	Pag.27
1973	Pag.28
1974	Pag.29

1975	Pag.30
1976	Pag.31
1977	Pag.31
1978	Pag.33
1979	Pag.34
1980	Pag.35
1981	Pag.35
1982	Pag.36
1983	Pag.37
1984	Pag.38
1985	Pag.40
1986	Pag.41
1987	Pag.42
1988	Pag.43
1989	Pag.44
1990	Pag.46
1991	Pag.47
1992	Pag.48
1993	Pag.49
1994	Pag.50
1995	Pag.53
1996	Pag.54
1997	Pag.55
1998	Pag.56
1999	Pag.56
2000	Pag.57
2001	Pag.57
2002	Pag.58
2003	Pag.60
2004	Pag.60

5. Fatores Intervenientes num Teste Clínico

5.1. As Fases de um Teste	Pag.62
---------------------------	--------

5.2. Fase Analítica	Pag.63
---------------------	--------

5.2.1. A Curva ROC	Pag.63
--------------------	--------

5.2.2 As Normas ISO	Pag.64
---------------------	--------

5.3. A Fase Pré Analítica	Pag.64
---------------------------	--------

5.3.1. A medicina baseada na evidência, sendo o laboratório o sistema de apoio para a decisão. Um artigo de Christopher P. Price, 2000	Pag.64
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------

5.3.2. Um artigo de 2002, onde é utilizada a MEDLINE como ferramenta de pesquisa	Pag.67
5.3.3. Fatores interferentes	Pag.67
5.3.4. As interferências na fase pré-analítica de amostras da medicina desportiva. Um estudo realizado em 2003	Pag.67
5.3.5. Os erros ocorridos na fase pré-analítica, um artigo de 2006	Pag.68
5.3.6. A qualidade da amostra, um estudo de 2007	Pag.69
5.3.7. A Gestão da Garantia da Qualidade no Processo Pré-analítico	Pag.71
Um artigo de 2012	
5.3.8. Avaliação dos erros pré-analíticos, um estudo de 2012	Pag.72
5.3.9. Um novo estudo de Plebani 2011	Pag.74
5.3.10. Um artigo sobre as melhorias da qualidade da fase pré-analítica 2013 Lippi G	Pag.75
6. Metodologia	Pag.77
6.1. Amostra	Pag.77
6.2. Apresentação dos Resultados	Pag.78
6.3. Resultados	Pag.84
6.4. Discussão	Pag.85
7. Conclusão	Pag.86
8. Limitações	Pag.87
9. Biografia	Pag.88

Índice de figuras e tabelas

Fig. Time- table for one cycle of sample preparation and chromatography carried	Pag.46
Fig. Laboratory testing begins and ends with patient care	Pag.62
Fig. Curva <i>ROC</i> “ <i>Receiver Operating Characteristic</i> ”	Pag.63
Fig.The elements of evidence-based laboratory medicine	Pag.65
Fig. Evidence of performance designed to facilitate decision- marking	Pag.65
Fig. Evidence-based laboratory medicine at the core (*) of continuous quality improvement	Pag.66
Fig. Laboratory testing	Pag.69
Fig. A qualidade da amostra	Pag.70
Fluxograma	Pag.71
Fig. Cinco amostras, com características diferentes:	Pag.70
Fluxograma Garantia da Qualidade no Processo Pré-analítico	Pag.71
Tabela Percentagem total dos erros pré-analíticos e sua distribuição	Pag.73
Tabela de erros pré-analíticos e as variáveis de erros	Pag.74

Gráficos do estudo

Figura 1: Média das categorias profissionais	Pag.77
Figura 2: Qual a fase mais importante para o resultado laboratorial	Pag.78
Figura 3: Correlação entre as profissões e as fases no procedimento da amostra	Pag.79
Figura 4: Correlação entre as fases de processamento da amostra e as instruções da colheita	Pag.80
Figura 5: Correlação entre as fases no processamento da amostra e a importância da informação clínica	Pag.81
Figura 6: Correlação entre as categorias profissionais e a importância da informação da informação clínica	Pag.82
Figura 7: Correlação entre as categorias profissionais e a importância das instruções na colheita	Pag.83

Siglas e Abreviaturas

TACSP	Técnico de Análises Clínicas e Saúde Pública
TDT	Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica
CLIA	Clinical Laboratory Improvement Amendments
IFCC	Committee of the International Federation of Clinical Chemistry
CK CPK	Creatine phosphokinase
CALIS	Computer-Assisted Laboratory Information System
POC	Point of care
LDH	Lactate Dehydrogenase
HPLC	High Performance Pressure Liquid Chromatography
LDL	Low Density Lipoprotein
RIA	Radioimmunoassay
FDA	Food and Drug Administration
PT	Testes de Proficiência
FPIA	Fluorescence Polarization Immuno Assay
FPLC	Fast Protein Liquid Chromatography
SNPs	Single Nucleotide Polimorphism
NMR	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear
FIA	Fluoroimunoensaio
IUPAP	International Union of Pure and Applied Physics
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
ARN	Ácido Ribonucleico
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
TCP	Transmission Control Protocol
IP	Internet Protocol

LIA	Latex Immunoassay
IRMA	Immuno Radio Metric Assay
DHPG	Didroxyphenylglycol
FPLC	Fast Protein Liquid Chromatography
HCG	Human Chorionic Gonadotropin
PTH	Parathyroid Hormone
TSH	Thyroid Stimulating Hormone
TNF	Tumor Necrosis Factors
CID-DIC	Disseminated Intravascular Coagulation
SOD	Superoxide Dismutase
GC/MS	Gas Chromatography Mass Spectrometry
SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulfate Polycrylamide Gel Electrophoresis
PSA	Prostate-Specific Antigen
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
DEIA	DNA Enzyme Immunoassay
NRSCL	National Reference System for Clinical Laboratories
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
PAS-ACT	Prostate-specific antigen
MDA	Malondialdehyde
CEN	Commission Européenne Normalisation
PCR	Polymerase Chain Reaction
RT PCR	Real Time Polymerase Chain Reaction
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
SARS	Severe Acute Respiratory Syndrome
CNH	Hormona Natriurética
ROC	Receiver Operating Characteristic
ISO	International Organization for Standardization
CQI	Controlo de Qualidade Interno

Resumo

O impacto da fase pré-analítica nos resultados é o objectivo do nosso trabalho.

Considera-se que esta fase é a mais importante no procedimento do teste no laboratório e que as variáveis independentes do laboratório são difíceis de controlar porque existem várias condicionantes quer dos profissionais, quer do doente, que por vezes não possibilita atribuir a importância desejada para que os resultados sejam fiáveis.

De que modo a fase pré-analítica pode interferir nos resultados de um trabalho de investigação. Para podermos avaliar este processo é necessário considerar outra condicionante, nomeadamente, o facto de o teste ser realizado em laboratórios específicos com a qualidade certificada mas que não intervêm na colheita, manuseamento, armazenamento e transporte da amostra, procedimentos importantes que traduzem uma boa gestão da amostra na fase pré-analítica, necessária para a fiabilidade dos resultados dos estudos de investigação clínica.

Palavras-chaves: Fase Pré- analítica. Interferências da amostra. Trabalhos de investigação.

Abstract

The impact of pre-analytical phase in the results is the objective of our work

Knowing that, this is the most important stage in the procedure of testing in the laboratory and because the independent variables the laboratory are difficult to control because these are several limitations of both the professional and the patient, sometimes does not assign importance to that desired result are reliable.

How the pre-analytical phase can interfere with the result of a research work, there is another constraint to consider the testing process to be performed in individual laboratory with certified quality, but not involved in harvesting, handing, storage and transport of the sample, important procedures that translate a good sample management in the preanalytical phase, necessary for the reliability of results of clinical research studies.

Keyword: Preanalytical Phase. Interferences Sample. Research.

1. Objectivo do estudo

Compreender a importância da fase pré-analítica nos trabalhos de investigação, com a utilização de tecnologias de laboratórios certificados.

Compreender os erros recorrentes desta fase e as consequências destes erros, através de consultas de estudos científicos

Observar, através de um estudo, a sensibilidade dos profissionais que estão directamente envolvidos nestes estudos clínicos.

2. Introdução

Este trabalho apresenta-se dividido em três partes. Na primeira parte foi realizada uma pesquisa bibliográfica, compreendida entre 1955 e 2004, com o objectivo de compreender a evolução tecnológica num laboratório de análises clínicas.

Para essa pesquisa foi consultado um artigo através do site *Clinical Chemistry* (uma revista internacional dirigida ao laboratório clínico que fornece 2.000 paginas por ano de artigos científicos sobre as mais diversas áreas do laboratório clínico).

Este artigo de revisão relata as modificações a um nível tecnológico, nomeadamente, a própria tecnologia, as orientações e as normas estipuladas na evolução dos recursos tecnológicos, acompanhados de boas práticas, para a melhoria da eficácia e eficiência dos recursos.

“ (...) eficaz na medida em que atinge os objectivos para os quais foi elaborado. Este conceito não é equivalente, mas está ligado ao conceito de eficiência que expressa a capacidade de obter o máximo de benefício com a melhor combinação de recursos e tecnologias ou a obtenção de um determinado benefício com o menor custo de recursos (...)” [Durán H.2000]

Ao consultarmos o artigo referido, constatámos que a procura desta eficácia /eficiência é observada com a evolução tecnológica, no que respeita às técnicas propriamente ditas ou à melhoria dos condicionamentos que estas apresentam, na implementação de normas e regulamentos que se foram criando devido às insuficiências de determinadas condicionantes observadas com a evolução tecnológica.

O segundo capítulo trata da aplicabilidade dessas técnicas no campo das ciências da saúde humana, as condicionantes observadas e as consequências destas, que por vezes provocam desvios nos resultados, inviabilizando o diagnóstico ou tornando inconclusivas as propostas de uma investigação clínica.

Através de artigos científicos, pretendemos comprovar que é uma preocupação que afecta não só a Europa mas todo o Mundo.

Por último, foi efetuada uma pesquisa e foi construído um questionário que, posteriormente, foi aplicado a um conjunto de sujeitos que poderão ter algum impacto futuro nos estudos clínicos, respetivamente, médicos de diferentes especialidades, estudantes de medicina, enfermeiros, indivíduos pertencentes a outras áreas profissionais do grupo de diagnóstico e terapêutica.

Os resultados obtidos possibilitaram-nos informação que poderá servir para futuros estudos que irão complementar o estudo agora realizado.

Com base nos resultados obtidos através da aplicação dos questionários e com uma avaliação estatística dos mesmos, através do *software* SPSS, obtivemos dados cruciais para a conclusão deste estudo.

3. Conteúdo profissional da Carreira de Técnico de Análises Clínicas e Saúde Pública

As competências de um Técnico de Análises Clínicas e Saúde Pública (TACSP) entre outras são:

“...desenvolvimento de actividades ao nível da patologia clínica, imunologia, hematologia clínica, genética e saúde pública, através do estudo, aplicação e avaliação das técnicas e métodos analíticos próprios, com fins de diagnóstico e de rastreio;” (alínea a) nº 1 art.5º Dec. Lei 564/99 de 21 de Dezembro).

“Cooperar em programas de investigação sobre matéria relacionada com a respectiva profissão ou actividade.” (alínea e) nº 3 art.7º Decreto-Lei 564/99 de 21 de Dezembro)

3. 1.Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica e as suas competências profissionais

O TACSP, devido à formação especializada, enquadra-se num grupo com outros profissionais, formando o grupo dos Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica (TDT) (Decreto-Lei 384-B/85 de 30 de setembro).

A atribuição de funções deste grupo encontra-se legislada:

“No desenvolvimento das funções, os técnicos de diagnóstico e terapêutica actuam em conformidade com a indicação clínica, pré-diagnóstico, diagnóstico e processo de investigação ou identificação, cabendo-lhes conceber, planejar, organizar, aplicar e avaliar o processo de trabalho no âmbito a respectiva profissão, com o objectivo da promoção da saúde, da prevenção, do diagnóstico, do tratamento, da reabilitação e da reinserção.” (2 -art. 3ºDec. Lei 564/99 de 21 de Dezembro).

Está prevista ainda, a sua integração com outros profissionais de saúde:

“... Articular a sua actuação com outros profissionais de saúde, para a prossecução eficaz dos cuidados de saúde” (alínea j) art. 6 Dec-Lei 564/99 de 21 de Dezembro)

“...Desenvolver e ou participar em projectos multidisciplinares de pesquisa e investigação” (alínea m) art. 6 Dec-Lei 564/99 de 21 de Dezembro).

3. 2. A Evolução do Saber Profissional

No início da carreira, o técnico de análises clínicas é integrado num serviço onde existem normas bem estipuladas dirigidas à qualidade dos procedimentos analíticos, que têm que ser geridos com o objectivo de uma boa qualidade nas tarefas e, consequentemente, na satisfação do cliente/utente.

“As ferramentas da Qualidade, quando utilizadas correctamente, são fundamentais em qualquer processo de melhoria contínua, permitindo às empresas a identificação e a análise de problemas” (Instituto Português da Qualidade Gestão da Qualidade. Ficha técnica).

No diagrama de Deming estão implícitas quatro palavras que fazem parte de um ciclo para o processo de gestão da qualidade:

Planear “*Plan*” o que pretendemos fazer num dado período de tempo e quais as acções a desenvolver para lá chegar. Executar “*Do*” qualquer acção/situação que vá de encontro aos objectivos ou estratégias desenvolvidas anteriormente. Verificar “*Check*” os resultados das nossas acções, para ter a certeza que o que obtivemos está de acordo ou suficientemente perto dos objetivos traçados. Actuar “*Act*” implementar mudanças que são necessárias para garantir que os resultados obtidos nas verificações são, efectiva e eficazmente, conseguidos durante o normal funcionamento da organização, chegando assim aos objectivos planeados. (Gama P. Ferramentas da Qualidade Instituto Português da Qualidade Gestão da Qualidade. Ficha técnica).

Orientado por estes conceitos, o TACSP pode integrar-se em grupos de investigação onde as áreas de saberes são diversas, mas todas convergem para o mesmo objectivo, preservar a saúde do doente.

Analisar, através de uma recolha bibliográfica prospetiva, as medidas corretivas a serem implementadas num estudo clínico, de modo a que os resultados analíticos tenham a sensibilidade, a especificidade desejada e comprovada pelo clínico numa perspectiva da medicina baseada na evidência.

4. Introdução do primeiro capítulo

Foi efectuada uma revisão baseada um artigo elaborado por Robert Rej entre 1955 a 2004.

Com o objectivo de compreender a evolução ocorrida nas tecnologias auxiliares de diagnóstico, foram mencionadas as alterações tecnológicas compreendidas como mais relevantes:

- Compreender as modificações ocorridas na avaliação dos analitos, a possibilidade de escolha do método mais adequado para determinado estudo, de acordo com as condicionantes que o envolvem.
- A evolução dos métodos de transmissão de resultados, primeiramente em suporte papel manuscrito, mais tarde com a descoberta da impressora em papel impresso e com a intervenção dos computadores, transmissão *on-line* retardada e actualmente, em tempo real.
- As preocupações que foram surgindo com os avanços tecnológicos, colmatadas com melhorias contínuas, através da elaboração de normas estipuladas com o objectivo da “proficiência” das metodologias, implementadas por grupos específicos.

No final da primeira parte, conclui-se que a evolução tecnológica permite:

Diagnosticar a patologia, seleccionar o modo de a eliminar ou atenuar, determinar a terapêutica adequada e monitoriza-la com avaliações sucessivas do fármaco administrado.

Os estudos genéticos fornecem informações importantes como:

- Determinar a terapêutica adequada, de acordo com as características fisiológicas, as características individuais de absorção e excreção do metabolismo.
- Estudar a predisposição do indivíduo para determinada doença com a ajuda de marcadores biológicos.
- Estudar as características genéticas dos familiares, de modo a ter uma abordagem mais direccionada no tratamento numa primeira fase de aplicação do fármaco no doente, de modo a evitar efeitos secundários e rentabilizar a terapêutica aplicada.

Em resumo, as novas tecnologias dos laboratórios de diagnóstico são um grande contributo para conservar ou recuperar o equilíbrio homeostático de um indivíduo.

4. Evolução tecnológica do Laboratório de Análises Clínica

1955

- Dr. David Drabkin, com o propósito de melhorar a qualidade dos resultados da hemoglobina, propôs a distribuição gratuita, de padrões para certificação do método. [Cannan RK1955]

- Electroforese em papel na determinação dos lípidos no sangue, utilizando esta técnica foi possível num estudo multinacional, compreender os efeitos da acumulação do colesterol nas artérias e a sua implicação nas doenças coronárias [Keys A1955]

- Eletroforese, técnica aplicada na separação das proteínas que possibilitou compreender a diversidade das lipoproteínas [Adlersberg D1955] [Brown RK 1955]

- As determinações dos gases sanguíneos, efectuada a partir de amostra obtida de uma punção no dedo ou no calcanhar, nos recém- nascidos com dificuldades respiratórias, avaliação realizada em microgasómetros. [Natelson S1955] [Singer RB1955]

1956

- Electroforese, um estudo de doenças cardíacas, utilizando esta técnica na separação das lipoproteínas [Anderson JT1956]

- Electroforese efectuada com papel próprio, papel de aspartato na separação das proteínas, utilizando a diferenciação iónica. [Laurell CB1956] [Wurm M1956]

- CLIA88' *Clinical Laboratory Improvement Amendments*, conjunto de imposições dirigidas aos laboratórios clínicos dos EUA com vista a uma melhoria de qualidade nos testes laboratoriais. A distribuição de controlos de qualidade proporcionou uma avaliação do desempenho intra-laboratorial, embora num conceito muito vasto. Com o objectivo de um controlo de proficiência, a IFCC *Committee of the International Federation of Clinical Chemistry* fabrica e distribui material específico, para a calibração dos parâmetros analíticos, pré-estabelecendo limites aceitáveis de intervalo de confiança, mas com uma grande margem de erro, (este material é elaborado por laboratórios referenciados) para a melhoria dos resultados laboratoriais. [Wootton IDP1956]

- Vários artigos são apresentados no congresso internacional em Nova Iorque, realizado entre 9-14 de Setembro de 1956, o tema principal era uma nova técnica, por espectrofluorescência, utilizado no fraccionamento das lipoproteínas, [Hosts A1956]

1857

- Varias publicações, baseadas na redução da quantidade de amostra a analisar, para “micro” e “ultramicro” em técnicas de espectrofotometria, no entanto a unidade micro é utilizada com moderação. [Sanz MC1957] [Carpenter KJ1957] [Stoner RE1957] [Kingsley GR1957] [Galloway LS1957]

- A primeira técnica com a aplicação da química seca em tira, com o fundamento da reacção catalisadora da glicose por oxidação. O *clinistix* [Free AH1957]

- Eletroforese, no estudo da heterogeneidade da hemoglobina humana, descoberta com esta técnica, em papel colocado na horizontal, permite constatar as diferenças anormais das hemoglobinas [Goldberg CA1957]

- O aparecimento do controlo de qualidade interno - Revela a preocupação de muitos laboratórios em melhorar a qualidade das análises, para isso realizam os seus próprios controlos de qualidade internos, estendendo-se mesmo esta preocupação aos outros países, com a realização de programas de amostras certificadas. [Wootton ID1957]

- Espectrofotometria na quantificação de 17-cetosteroides e catecolaminas, uma descoberta inovadora. [Kafka MS1957]

1958

- Fluorométrica, uma técnica mais sensível, é desenvolvida para quantificar corticosteróides. [Silber RH1958]

- Técnicas enzimáticas fotométricas permitem a verificação da instabilidade da desidrogenase láctica no soro, numa temperatura ambiente de 37° C, levam á conclusão da existência de determinado factor, no organismo, que permite mante-la estável. [Lazaroni JA1958]

- A hipótese de execução de novos parâmetros analíticos, o aumento do número dos parâmetros requisitados e a escassez de pessoal qualificado, foram motivos que a automatização num laboratório de análises clínicas, proporcionado pelo avanço tecnológico, cumprindo determinados requisitos como;

- A amostras a quantificar ser plasma e não soro, reduzindo o tempo de determinação, não sendo necessário a retracção do coagulo.

- A pipeta automática devidamente calibrada, mantendo a quantidade da amostra para o plasma, o padrão e o branco.

- A utilização da técnica de decantação para a separação do sobrenadante do precipitado. [Saifer A1958]

1959

- Colorimetria na quantificação da fosfatase alcalina, técnica automatizada com elevada reprodutibilidade e linearidade na actividade enzimática. [Marsh WH1959]

- Novos sistemas analíticos, automáticos permitem a utilização de amostras na ordem de 100µl.

É revista a utilização de anticoagulantes nas amostras, passando-se a usar amostras de soro, obtido de sangue colhido em tubos “vacutainer” com elevado desempenho, são estipuladas várias orientações com vista a uma elevada exactidão. [Klein B1959]

- Um método enzimático utilizado, para verificação do aumento do colesterol com o aumento da idade [Ackermann PG1959]

- A possibilidade de quantificação da epinefrina e da norepinefrina no soro. [Keenan MP1959]

- Verifica-se a necessidade de rever o licenciamento e a creditação dos laboratórios, para uma maior qualificação dos serviços prestados.

“(...) the role of laboratory professionals and their accreditation and licensure are reviewed, and a position paper is issued; licensure is advocated as the “quality of laboratory service being (...)”

[Robert Rej: 2004: 2421]

1960

- A aprovação do tratamento por antipsicóticos faz surgir uma nova preocupação, a monitorização do fármaco; a análise qualitativa para determinação da presença ou ausência da droga na urina, após administração, durante vários dias, quer de sedativos, hipnóticos ou de tranquilizantes. [Sobolewski G 1960]

- Espectrofotometria na quantificação da ribonuclease em indivíduos saudáveis e doentes, oferece um limite de detecção por absorvância inferior a 1ng, permitindo estabelecer limites a partir dos quais é considerada patologia [Levy AL1960]

- Um novo método de separação das proteínas por densidade do gradiente, com detecção por espectrofotometria, resolve o problema da degradação da proteína que ocorria na separação por electroforese. [Colehour JK1960]

- Novo método enzimático na determinação da amilase, permite uma maior reprodutibilidade e exactidão [Somogyi M. 1960]
- A cromatografia em fibra de vidro impregnada de substâncias absorventes em substituição da cromatografia em papel, é aplicada na determinação das hormonas do sistema adrenal e nas gónadas. [Dingman JF1960]
- O início da comercialização de um reagente para a determinação da fosfatase alcalina compactado num simples comprimido (*Phospha TABS*). O resultado da reacção com um substrato é lida por espectrofotometria [Klein B1960]
- Espectrofotometria de massa, um estudo dos componentes (átomos) da água existentes na urina e no plasma. [Gaebler OH1960]

1961

- A verificação do equilíbrio “Acido/Base” com as determinações dos gases no sangue e dos electrólitos, utilizando amostras de sangue colhidas em tubos capilares heparinizados. [Astrup P1961]
- Um novo método para a quantificação das proteínas por espectrofotometria, permite a redução da quantidade da amostra utilizada. [Van Handel1961]
- A determinação de parâmetros como exactidão, precisão, especificidade, sensibilidade, fiabilidade, as características de uma amostra padrão, os requisitos de uma amostra controlo, são questões relevantes. [Klugerman MR1961]

1962

- Um método mais específico na quantificação da glucose, com reagente de orto toluidina, por colorimetria ou espectrofotometria. [Dubowski KM 1962]
- Espectrofotometria, uma tecnologia utilizando menor quantidade de amostra, maior sensibilidade, com a modificação do método de análise do colesterol, substituindo, na fase da purificação, o ácido glacial acético por etanol, sem interferência dos resultados em soros hemolizados, lipémicos ou ictericos. [Bowman RE 1962]

- Electroforese processada em gel de poliacrilamida, na vertical é um novo método permitindo a separação de mais de trinta proteínas séricas. [Raymond S 1962]

1963

- Um novo método por turbidimetria reduz o tempo da análise para 3h e 20 minutos, método baseado na diferença da lipase do soro e na lipase pancreática. [Vogel WC1963]

- Uma nova preocupação, a verificação da precisão e da exactidão dos ensaios clínicos, para isso foram escolhidos 200 laboratórios canadenses, para avaliarem vários parâmetros analíticos da mesma amostra, como glicose, ureia, sódio, fosforo, colesterol, entre outros. Os resultados foram analisados estatisticamente e verificou-se que mais de 40% dos 3762 resultados verificados estavam fora dos limites aceitáveis, não cumpriam os requisitos necessários para a exactidão e precisão. Estes estudos já tinham sido iniciados por Tonks desde 1952 a 1954. Verificou-se uma grande necessidade de melhorar o desempenho da maioria dos laboratórios. [Tonks DB1963]

- Um novo método por colorimetria para a quantificação da ureia em micro amostras [Coulombe JJ1963]

1964

- A descoberta de vários parâmetros analíticos despoletou mais pedidos de análises, verifica-se uma escassez do pessoal técnico na realização das mesmas, para colmatar este défice surge o primeiro analisador multicanal com um sistema de análise colorimétrica, permite ao operador executar 960 testes diários, equivalente aos testes efectuados por um operador com técnicas manuais, durante um mês. [Skeggs LT 1964]

- Um sistema com determinação automática, simultanea do calcio e do fosforo. [Kessler G 1964]

- Espectrofotometria na quantificação da tirosina e da fenilamina e a relação destes valores com dos recém-nascidos de baixo peso devido a distúrbios metabólicos. [Wong P 1964]

- A determinação do calcio por espectrofotometria por absorção atómica (AA), uma técnica que não necessita da remoção prévia de qualquer componente existente no soro, antes da quantificação do calcio. [Zettner A 1964]

-Colorimetria, na determinação do ferro, com a utilização de um cromogéneo, o resultado do teste foi comparado com um teste já implementado, as absorvâncias de um e outro método resultaram idênticas. [Fischer DS1964]

1965

A automatização contínua em foco:

- O aparecimento do primeiro robot químico que determina a fosfatase alcalina e outros parâmetros analíticos tais como a ureia, as catecolaminas, as fenilaminas, é tema de várias publicações. [Morgenstern S1965] [Marsch WH1965] [Robinson RL1965] [Hill JB1965]

- Técnicas de fluorescência automatizadas na quantificação de vários analitos no soro, desidrogenase láctica, cálcio e a actividade da creatinina quinase [Brooks L1965] [Hill JB1965] [Sax SM1965]

- Colorimétrica na quantificação da colinesterase, um método prático e sensível, necessitando de uma quantidade da amostra inferior a 100µl, na triagem dos doentes antes de serem submetidos a anestesia ou para os doentes após exposição a organofosforatos. [Garry PJ1965]

- Um novo sistema para o armazenamento dos resultados das análises em substituição do papel, em cartões perfurados facilitou o processo. [Peacock AC1965]

- Técnica Enzimática, que permite a monitorização contínua da glucose, utilizando a reacção enzimática da glucose com a enzima glucose-oxidase, traduzida na diminuição do oxigénio. Para esta técnica é utilizado um sistema colocado numa veia do braço do doente, e são utilizadas quantidades mínimas de sangue. [Kadish AH1965]

- Melhoria na técnica de electroforese, pela utilização da membrana de acetato de celulose como suporte, que tem grandes vantagens em relação á técnica anterior, para a separação das proteínas séricas, diminuindo o tempo da determinação e proporcionando uma melhor resolução. [Kaplan A1965]

1966

- Varias técnicas por cromatografia mais sensíveis, começam a ser utilizadas nas determinações de analitos.

A cromatografia liquido-gasosa para quantificação dos estrogénios em plasma de amostras de grávidas. [Kroman HS]

A cromatografia liquido-gasosa para a quantificação de 17-cetosteroides fraccionados. [Berrett CR1966]

A cromatografia liquido-gasosa para a determinação de ácido láctico no sangue. [Savory J1966]

- Com a automatização das técnicas analíticas a reprodutibilidade dos resultados é confirmado que mais analitos são quantificados em simultâneo e os perfis serológico e químico são definidos. [Bryan J1966]

- Os analisadores multicanais, com a possibilidade de analisar 10 parâmetros em simultâneo, numa amostra inferior a 1ml, numa taxa de 60 analitos por hora.

Os resultados exibidos em duas ou cinco cassetes magnéticas gravadas, com despesas avultadas na manutenção. [Thiers RE 1966] [Bryan DJ 1966]

- As análises enzimáticas começam a fazer parte da rotina, são escritos vários artigos com este assunto. [Bowers GN1966] [MorgensternS1966] [Rosenberg JC1966] [Babson AL1966] [Bergerman J1966]

- A tendência para reagentes pré-fabricados aumenta com a utilização dos auto-analisadores.

(...) *“Reagent Sets and Kits” is Published* (...) [R.Robert2004]

- Surgem no mercado as pipetas semiautomáticas, no início utilizadas para determinação da fibrina e protrombina e depois utilizadas também na química, permitem que profissionais pouco qualificados efectuem determinações analíticas exactas após um curto período de aprendizagem. [Harrison NB1966]

1967

- Uma nova preocupação surge, a definição de “padrão” e tudo o que o envolve no que se refere à sua definição, as normas e as suas limitações. Para isso organizam-se comités específicos com o fim de se solucionar o problema. [Radin N1967]

- A determinação do CK ou CPK auxilia nos diagnósticos dos distúrbios do músculo-esquelético e cardíaco. Uma técnica de espectrofotometria, tendo como princípio, as reacções enzimáticas. [Hess JW1967]

- Os fatores de coagulação começam a merecer destaque ocasionando publicações, no que diz respeito à preocupação da reprodutibilidade e fiabilidade dos resultados que possibilitou alguns

acertos nos procedimentos da técnica como a temperatura e o tempo de incubação. [Swaim WR1967] [Corn M1967]

- As técnicas enzimáticas são cada vez mais utilizadas nas determinações de vários analitos, devido ao rápido poder de execução, bem como a sua precisão. [Marbach EP1967] [Klinenberg JR1967]

- CLIA – Uma nova regulamentação com o propósito da melhoria de qualidade dos testes efectuados nos laboratórios de análises clínicas (testes de proficiência).

(*Clinical Laboratory Improvement Amendments*) *CLIA'67 becomes law* [R.Robert2004:2418]

1968

- A preocupação nas melhorias das determinações analíticas com padrões específicos para todas as determinações, tendo sido definidas amostras de soro de origem bovina. [Peters TJ1968] [Young DS 1968] [Logan JE 1968]

- Os benefícios dos novos sistemas de informação, recentemente implementados nos laboratórios, incluem melhorias com a utilização de cartões perfurados para as análises, no que diz respeito às requisições e apresentação dos relatórios clínicos do doente.

Esta nova funcionalidade foi implementada num sistema da IBM (*International business machines*) modelo 1440 com 8 K de memória interna (8 kilo bites=unidades de memória).

O primeiro assistente de laboratório informatizado denominado "CALIS" (*computer-assisted Laboratory information system*) [Cillo AA1968]

- As determinações analíticas sob uma nova perspectiva com a utilização das novas tecnologias, que permitem o estudo detalhado das estruturas dos compostos químicos. [Dean JA 1968] [Creveling CR 1968] [Scott CD 1968] [Burtis CA 1968]

- A determinação da T4 no soro, uma tecnologia de cromatografia por troca iónica. [Pileggi VJ 1968]

- Melhoria no laboratório clínico.

Publicam-se novas directrizes de competências, os testes de proficiência são revistos e os procedimentos que visam a uma melhoria de qualidades dos laboratórios clínicos são diferenciados uns dos outros pela sua qualificação.

(...) *Guidelines for clinical laboratory proficiency are published within months of Congressional approval of CLIA'67.* [R.Robert2004:2430]

1969

- Este ano caracteriza-se pela evolução das determinações analíticas serem 95% efectuadas por colorimetria e espectrofotometria.

- São publicadas normas para garantir a fiabilidade e a reprodutibilidade das determinações por espectrofotometria, tendo sido estipulado que nenhuma medida espectrofotométrica podia ser considerada fiável, a menos que o instrumento tivesse sido verificado pelas normas adequadas às especificações inerentes. [Rand RN1969]

- Surgem publicações de testes para verificar lesão hepática, através de técnicas enzimáticas. [Szasz G1969] [Belfield A1969]

- Aparecem os testes rápidos, alguns efetuados à cabeceira do doente, de modo a permitir uma rápida decisão clínica, os denominados testes *POC (Point-of-care)* [Rosevear JW1969]

- As drogas mais utilizadas nos anos 60 são quantificadas por cromatografia [Pippenger C 1969]

- Verifica-se uma preocupação da validação do resultado obtido com as características do indivíduo, considerando as diferenças interindividual. [Wallace J1969]

1970

- Num estudo realizado com os resultados analíticos em indivíduos com as mesmas idades mas de etnias diferentes, verifica-se uma variação inter-individual, visto que os indivíduos não estavam sujeitos a nenhuma dieta, não se tendo verificado nenhuma correlação com os resultados do sódio, potássio, cloro, ureia, colesterol e LDH. [Young D1970]

- Os resultados obtidos através da técnica de HPLC, como o registo do analítico por tecnologia electrónica, de leitura bidimensional, na separação dos ácidos nucleicos, constituem um tema da conferência anual.

Clin Chem 1970;16: 623– 725.

- A tecnologia por absorção atómica é utilizada para vários analitos no soro ou em outros fluidos biológicos. [Pybus J1970] [Nomoto S1970] [Gochman N1970] [Pybus J1970]

- A determinação do fibrinogénio no plasma, uma técnica com a utilização de um reagente, a trombina. O resultado é lido em absorvâncias, grande relevância nos valores patológicos [Grannis GF1970]

1971

- A utilização da espectrofotometria por absorção atômica na avaliação de outros analitos, ferro, magnésio, cobre, zinco, chumbo, em diferentes matrizes, plasma urina e líquido cefalorraquidiano

[Matousek JP1971] [Meret S1971] [Sidney K1971]

- Muitas considerações são formuladas para avaliar os valores de referência.

A escolha do método estatístico para avaliar um estudo pode influenciar o valor considerado normal, para além de quaisquer considerações biológicas ou químicas. Os estudos não paramétricos são os mais recomendados para fins práticos^[Reed AH1971]

- Foi realizada uma melhoria nos auto-analisadores; a aplicação de um rotor incorporado no aparelho onde se encontram os reagentes em reservatório refrigerado, possibilitando a adição do reagente à amostra, com uma pipetagem automática, com medidas exatas, adequadas à reacção. O produto da reacção é lido por absorvância. Em simultâneo com as amostras, são efectuados os controlos que garantem a qualidade dos resultados.

Com a automatização de vários analitos em simultâneo foi possível compreender melhor toda a relação do perfil enzimático e auxiliou o diagnóstico clínico na compreensão de alguns distúrbios, Todos os requisitos mencionados e outros permitiu uma rapidez do resultado, assim como a qualidade do mesmo^{[Fabiny DL 1971] [Tiffany TO 1971] [Ertingshausen G 1971]}

- Um auto-analisador de fluxo contínuo equipado com um fluorímetro e um nefelómetro para a determinação das imunoglobulinas séricas IgG, IgA e IgM com condições optimizadas para a reacção anticorpo-antígeno, com diluições bem determinadas, uma tecnologia com grande sensibilidade e especificidade nos resultados, um grande contributo para o diagnóstico.^[Killingsworth LM1971]

Num resumo das modificações verificadas neste ano, pode concluir-se:

Foi um ano em que se verificou uma melhoria considerável nas determinações ocorridas em várias áreas da patologia clínica, com as transformações efectuadas nos analisadores automáticos passando a reunir determinadas características, aperfeiçoando as determinações analíticas quer no que respeita à reacção propriamente dita, quer na leitura dessa reacção, tornando os resultados credíveis com a possibilidade de se monitorizarem as amostras e controlos nas várias corridas analíticas.

1972

- A determinação do LDL no plasma por estimativa, através da relação da determinação do colesterol total, do HDL e dos triglicéridos. Esta técnica dispensa ultracentrifugação, é necessária apenas a precipitação das proteínas do plasma, com a junção de um precipitado. [Friedewald WT1972]

- Uma nova abordagem, de especial relevância, são as interacções medicamentosas nos resultados dos testes, em que na abordagem são destacados os fármacos mais interferentes; a resposta fisiológica á droga e as sobredosagens. Um artigo de cerca de 300 páginas. [Young DS1972]

- Novas quantificações de analitos em diferentes fluidos biológicos, com leitura por espectrofotometria ou por cromatografia; a prolina no plasma e na urina, a dopamina, uma aplicação na pediatria, com a amostra obtida da picada do dedo ou de sangue venoso, a determinação do cianeto e seus derivados, para monitorização da abstinência ao fumo, sendo ainda responsável por um distúrbio ocular originando um determinado tipo de cegueira. Outros analitos foram avaliados, com técnicas específicas sem o perigo das interferências de outras substâncias que pudessem distorcer os resultados. [Goodwin JF1972] [Nagatsu T1972] [Pettigrew AR1972]

1973

- A quantificação dos lípidos, o centro das atenções utilizando varias metodologias; técnicas enzimáticas para os triglicéridos, a modificação da reacção introduzindo hidrólise enzimática que substitui a técnica de saponificação, em que a leitura é efectuada num espectrofotómetro da marca *Beckman*; outra técnica colorimétrica para determinação de triglicéridos com a preocupação principal de melhorar o tempo de estabilização dos reagentes, todas as medidas com vista à optimização, utilizando reagentes mais rápidos na reacção e menos degradáveis ou substituindo a técnica, todos os artigos com um objectivo comum, a melhoria da técnica dos triglicéridos. [Bucolo G1973] [Foster LB1973] [Neri BP1973] [Gottfried SP1973]

- Fluorescência, na quantificação do colesterol em amostras com hemólise ou ictéricas tornando possível a eliminação destes factores interferentes. [Richmond W1973]

- Electroforese, para a determinação das lipoproteínas em que a combinação de duas técnicas diminuiu o tempo da execução, assim como permitiu a verificação do padrão lipoproteico no soro. [Seidel D1973]

- A preocupação da escolha do método, para a determinação do calcio reúne condicionantes; a escolha adequada do método e a complementaridade do material de referência. Esta determinação,

do cálcio ionizado torna-se possível por espectrometria de massa, com o complemento de um eléctrodo específico. [Cali JP1973] [Ladenson JH1973]

- RIA (RADIOIMUNOENSAIO), o desenvolvimento das técnicas para fluidos biológicos; verifica-se uma melhoria nas várias etapas, a afinidade dos ligantes é um pré-requisito para a sua optimização, atribuindo uma grande sensibilidade e especificidade. [Zettner A1973] [Dunn RT1973] [Schneider RS1973]

- A Citometria de fluxo. Um impulso mecânico possibilita a passagem da amostra por um feixe laser que permite a diferenciação das células em grupos distintos, quer pelas diferentes intensidades de fluorescência, quer pelas diferentes características de dispersão da luz ou pela combinação destas duas.

Neste instrumento as células encontrando-se em suspensão no fluxo central de um pequeno jacto do líquido, à medida que passam através de dois feixes de laser são seleccionadas e captadas. Do jacto resultam gotículas uniformes, e essas gotículas contendo as células seleccionadas são carregadas electricamente, seguidamente projectadas num campo eléctrico. As populações de células são apresentadas em diferentes fracções. Várias células são processadas em segundos.

Técnicas analíticas de radioisótopos indicam que apenas alguns milhares de moléculas fluorescentes necessitam de estar presentes numa célula para que possa ser detectada. Várias aplicações biológicas e clínicas são discutidas. [Hulett HR1973]

1974

- O colesterol total no soro determinado por técnicas enzimáticas, utilizando um único reagente, sem necessidade de tratamento prévio da amostra e leitura no espectrofotómetro. O método proporciona uma melhor especificidade do que os anteriormente relatados e tem excelente precisão. [Allain CC1974]

- A quantificação de CK por técnica cromatográfica de permuta aniónica, em amostras de soro e tecidos com origem músculo-esquelético e cerebral. A distribuição de actividade total da enzima nas fracções eluídas foi específica e reprodutível.

Foram quantificados 71 soros de pacientes com enfarte do miocárdio e outras doenças associadas com a elevada actividade CK, os valores encontrados têm características idênticas e específicas ao padrão clínico de infarto do miocárdio. [Mercer DW1974]

- A diferenciação por electroforese, das cadeias de globina da hemoglobina, em acetato de celulose em tampão, ácidos ou alcalinos (pH entre de 6 e 9) é um meio simples e rápido de caracterizar hemoglobinas.

Cada cadeia de globina migra a um ritmo, o qual varia com o pH da composição do tampão. Os dados combinados permitem a diferenciação das moléculas.

Verifica-se uma elevada especificidade, de algumas hemoglobinas. [Schneider RG1974]

- A correlação entre a concentração de albumina sérica e o IgG no líquido cefalorraquidiano (LCR) surge como uma nova abordagem. Uma técnica modificada por electroforese utilizando apenas 100 µl da amostra de LCR, em contraste com a análise por electroforese anterior, determinada em 5 a 10ml de amostra. [Ganrot K1974]

- A técnica de imunonefelometria na determinação da albumina urinária. O método revela-se de grande sensibilidade. A acurácia, confirmada a partir de técnicas de recuperação. Um estudo comparativo de 176 amostras de urina, com outra técnica certificada. A verificação da sensibilidade e especificidade foi observada pelo coeficiente de correlação. Uma técnica eficaz, uma sugestão num laboratório de rotina. [Lizana J1974]

- Estabelecem-se regras para a comercialização dos *Kits*. FDA (*Food and Drug Administration*) uma organização que controla e estabelece leis no campo da alimentação e drogas e outras áreas clarifica as regras de utilização dos “Kits” de reagentes estabelecendo directrizes informativas respeitantes aos componentes dos reagentes, cuidados na manipulação, conservação e armazenamento, além outras informações importantes para uma boa funcionalidade.

(...) *The FDA clarifies its role in regulation of diagnostic kit.* [R.Robert2004]

1975

- A sequenciação do ADN, utilizando ADNs marcados radioactivamente, (nucleótidos conhecidos marcados, designadas sondas) que permite captura dos nucleótidos complementares. Uma técnica que consegue superar as dificuldades encontradas nos ensaios colorimétricos e fluorométricos utilizados no momento. [Steinman CR1975]

- A extracção de nucleótidos por baixa pressão, um procedimento analítico de permuta aniónica em coluna utilizando soluções alcalinas como solventes, a duração do ensaio é cerca de 1hora. [Khym JX1975]

- CK o centro das atenções; ensaio de cinética enzimática para detecção da actividade do CK e a sua fracção CK-MB, no aparelho da *Abbot ABA-100*, com leitura espectrofotométrica.

A separação das isoenzimas MM e MB por troca iónica, verificando-se uma subida exponencial da actividade da fracção MB nas amostras de indivíduos com lesão cardíaca, o aumento dos valores séricos parece reflectir o grau de lesão do miocárdio. Um método de resolução muito rápido, com duração de minutos.

- Separação das isoenzimas por técnica electroforetica de acetato celulose e comparação com outra técnica. [Mercer DW1975] [Henry PD1975] [Yasmineh WG1975]

- A padronização da proteína total no soro utilizando a reacção do biureto. Foi testada uma solução padrão, de soro bovino, em simultâneo com uma de soro humano, obtidas após liofilização da qual resultou uma albumina.

O ensaio com o reagente de biureto revelou-se sensível e com pouca variabilidade. Das amostras testadas das duas origens, não se registaram diferenças nos resultados obtidos. [Doumas BT1975]

1976

- As Vitaminas:

- A avaliação do défice das vitaminas B1, B2 e B6 nos eritrócitos, um teste com leitura num espectrofotómetro por ultravioleta, com condições específicas para reduzir o ruído da absorvância elevada causada pela hemoglobina. [Bayoumi RA1976]

- A avaliação da Vitamina D₃ no soro por tecnologia radioactiva avaliada no líquido de cintilação, em cromatografia em coluna. [Bouillon R1976]

- As IgG, IgM, IgA. Factores determinantes das reacções imunológicas, avaliadas no soro e no líquido cefalorraquidiano, por nefelometria, a laser, uma técnica rápida, com elevado grau de precisão e sensibilidade. [Deaton CD1976]

- A Renina plasmática quantificada por um método de radioimunoensaio em que o valor do pH 6,0 é fundamental para a estabilidade da angiotensina que irá ser quantificada sendo condição importante a temperatura da amostra ser mantida a 37°C. [Fyhrquist F1976]

- A problemática levantada pela CLIA'76 (Clinical Laboratory Improvement) em relação aos maus resultados laboratoriais relativos as amostras PT (testes de proficiência). A campanha desenvolvida pelos laboratórios para colmatar as falhas.

1977

- Novamente as proteínas

- Determinação das proteínas no soro por nefelometria, reacção antigénio-anticorpo, técnica automática muito precisa com requisitos específicos, desenvolvida pela *Beckman Instruments, Inc., Fullerton, Calif. 92634* [Sternberg JC977]

- Colesterol novas tecnologias para a determinação; pela *Beckman*, elevada precisão, com a velocidade da reacção monitorizada através de um eléctrodo. Verificada a linearidade nos resultados

de doentes com hiperlipidemia, e a transmissão dos resultados através de um sistema digital. [Bronzert TJ1977]

- Amilase

A determinação da amilase pancreática e a amilase salivar por um método rápido, sendo considerada a amilase salivar mais específica do que a pancreática. A eficiência do método foi comprovada pelas tecnologias de cromatografia e de electroforese. [O'Donnell MD977]

- Insulina

Determinação da insulina através da sua ligação aos seus receptores existentes nos eritrócitos, uma técnica radioactiva. Esta técnica, devido á sua especificidade e sensibilidade demonstrou ser importante, para ser efectuada em estudos clínicos futuros, relativos aos receptores eritrocitarios da insulina. [Gambhir KK1977]

- Saliva como uma nova matriz na determinação de fármacos, uma técnica não invasiva útil para a monitorização de fármacos em crianças. Utilizando cromatografia gasosa acoplado a espectrofotómetro de massa.

Comparada com técnicas de radioimunoensaio e outros métodos de espectrofotometria demonstrou maior sensibilidade e especificidade. [Horning MG1977]

- Outro método para determinação de fármacos por HPLC. Os fármacos anticonvulsivos, tais como fenobarbital, fenitoina, carbamazepina e outros, são avaliados em simultâneo no soro; verifica-se uma grande a sensibilidade e a especificidade neste método. A leitura é feita por absorção. [Kabra PM1977]

- A quantificação da gentamicina por fluorescência, determinada numa quantidade de soro mínima, apenas 1µl, verificando-se elevada sensibilidade e especificidade. [Burd JF1977]

- Outros fluidos biológicos, a urina, o líquido amniótico, utilizados para determinação de nucleósidos com técnicas de HPLC. [Davis GE1977]

- A mesma tecnologia na quantificação das catecolaminas, epinefrina, metanefrina e outros derivados, importantes na funcionalidade do sistema nervoso central e periférico. [Shoup RE1977]

- Devido á múltipla utilização de *Kits* de reagentes nos ensaios enzimáticos e radioimunoensaios em sistemas automáticos e semiautomáticos, considera-se necessário responsabilizar as várias empresas que surgem no mercado traçando directrizes, com o objectivo de permitir uma qualidade no produto oferecido, com rigor ético.

No que respeita à determinação de valores considerados normais, valores patológicos, bem como a valores de referência dos analitos testados, evidência de testes que comprovem a confiabilidade,

para que o valor obtido possa dar ao clínico uma informação clara e precisa que permita distinguir doença ou ausência desta, face ao resultado. [Schoen I1977]

- Os laboratórios de química clínica transformam-se em empresas de grandes negócios e para que essas empresas se tornarem rentáveis é necessária uma reformulação nos aparelhos, trocando-os por aparelhos automáticos ou semiautomáticos aumentando exponencialmente a produtividade.

(...) *The two major current trends foreseen for clinical chemistry in the United States are (a) a greater demand for "stat" instruments and (b) a demand for high-volume profiling machines.* [R.Robert2004]

1978

- Química seca, técnica inovadora; um pequeno dispositivo, uma matriz porosa, do tamanho de uma pequena disquete com reagentes incorporados, secos que em contacto com o soro reagem e o produto da reacção é lido por colorimetria, para a determinação da glicose em aparelho automático, revelou precisão e exactidão bastante aceitável.

A química seca aplicada nas determinações de outros analitos, como a ureia, a bilirrubina, a amilase; as moléculas maiores sofrem uma transformação, através de componentes específicos da matriz, resultando partículas mais pequenas possíveis de quantificação; como o caso dos triglicéridos que têm que sofrer hidrólise antes da sua determinação, sendo as leituras espectrofotométricas, ajustadas às características dos analitos a determinar. [Curme HG1978] [Spayd RW1978]

- As transaminases, as exigências de um ajuste na metodologia foi reconhecida desde 1962, com o ajuste do pH dos reagentes que interferem na reacção e o ajuste da temperatura da reacção enzima substrato são alguns pormenores que contribuíram para a sua optimização. Estas modificações foram desenvolvidas num aparelho *Eppendorf Spektrum Line Photometer 6118*. [Bergmeyer HU1978]

- HDL, uma fracção do colesterol, lipoproteína de alta densidade quantificada num aparelho *ABA-100 Bichromatic Analyzer (Abbott Laboratories Diagnostic)*.

A existência das lipoproteínas foi comprovada por electroforese, revelando o fraccionamento das bandas. A relação directa da lipoproteína HDL de alta densidade como uma lipoproteína LDL de baixa densidade, sendo a HDL uma reguladora da LDL. Esta técnica torna-se um grande contributo para o rastreio da doença cardiovascular. [Finley PR1978]

- A determinação do HDL em amostras lipémicas. Esta interferência é anulada complementando o procedimento com uma ultracentrifugação, que anula os efeitos da interferência, a quantidade de amostras necessária para a reacção é reduzida em relação aos outros métodos, os procedimentos de centrifugação e incubação são efectuados á temperatura ambiente. [Warnick GR1978]

Outras determinações por HPLC:

- A determinação do retinol, um derivado da vitamina A; a vantagem desta metodologia é a possibilidade de se poder avaliar numa única colheita, com 200µl de soro, os níveis séricos, sem ser necessário o procedimento do antes e o depois da toma. Este procedimento analítico, com detecção ultravioleta, de elevada sensibilidade e especificidade. [DeRuyter MG1978]
- Um procedimento analítico para determinações das vitaminas D₂, D₃, 25-hydroxyvitamina, metabolitos da vitamina D, com 2 ml e plasma ou soro. Revelou-se de alta sensibilidade e especificidade, um método excelente para a monitorização terapêutica da vitamina D. [Jones G1978]
- Tricíclicos e outros fármacos antidepressivos, em amostras de soro de 2ml, um método com detecção ultravioleta de grande sensibilidade e especificidade, constituindo uma auxilio na monitorização deste fármaco. [Proelss HF1978]
- Antibióticos, quantificação da gentamicina e outros antibióticos aminoglicosídios (grupo de fármacos compostos por um grupo amina e outro glicosídeo, cuja acção se reflecte na inibição da síntese proteica de algumas bactérias). Uma tecnologia de grande sensibilidade e especificidade, um auxílio na monitorização do antibiótico em doentes com insuficiências renais. [Anhalt JP1978]
- As catecolaminas, um procedimento analítico determinado no plasma podendo ser também quantificada na urina e noutras matrizes biológicas, desenvolvido por sistema HPLC com detector de fluorescência modelo, *Spectrofluoro, FS 970*. [Davis TP1978]

1979

- O CK, a subunidade CK-BB, avaliadas por técnico radioimunoensaio e por electroforese foram confirmados valores alterados em doentes com neoplasia, tendo-se revelado um bom marcador de doença neoplásica. [Silverman LM1979]
- CK-BB dois métodos comparativos por electroforese e cromatografia por troca iónica, confirmam os valores elevados destas isoenzimas. [Urdal P1979]
- A utilização de métodos estatísticos para avaliação do método analítico, o desvio padrão, a presença dos *outliers*. [Cornbleet PJ]

- Lípidos e lipoproteínas, nova técnica por focagem isoelétrica na diferenciação das bandas das lipoproteínas de baixa densidade, uma metodologia no rastreio da doença vascular ocorrida por hiperlipoproteinemia. [Warnick GR1979]

- Lipoproteínas de alta densidade, o colesterol fração HDL, causa de doença cardíaca, estudo comparativo de seis metodologias com uma outra metodologia envolvendo uma ultracentrifugação para a sua determinação. [Warnick GR1979]

- Quantificação de catecolaminas na urina por HPLC, com detecção ultravioleta, uma técnica de grande sensibilidade e especificidade, um auxílio na triagem dos doentes hipertensivos com neoplasias benignas localizadas nas glândulas supra-renais. [Moyer TP1979]

- Uma questão discutida durante anos tem agora grande relevância, as unidades de medida do SI (sistema internacional de unidades). Poder compreender o significado clínico da relação altura e peso, com metro e quilograma, a temperatura do corpo medida em graus Celsius, o significado de moles/litro, CO₂ a 5%, O₂ a 25%, os símbolos representativos da absorvância. São desenvolvidos comitês específicos para estas abordagens IUPAP (*International Union of Pure and Applied Physics*), IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), ISO (*International Organization for Standardization*), para chegarem a uma conclusão com benefícios na área da saúde. [Dumas BT1979]

1980

- Experiências com tecnologias de “pico”. Mais de 25 ácidos orgânicos detectados por cromatografia gasosa, na urina, na mesma amostra, o gráfico ou cromatograma com vários picos correspondentes a cada elemento detectado; as características da temperatura constante durante a técnica, assim como a escolha de padrões específicos, são alguns requisitos importantes para estas determinações com tecnologias novas. [Tanaka K1980]

- Um novo complemento na técnica enzimática para determinação do colesterol, com a utilização de um polietileno (macromoléculas formadas por subunidades estruturais menores), em que a utilização deste composto, demonstrou ser eficaz incluindo em amostras lipêmicas. [Demacker PN1980]

- Determinação dos anticorpos do cortisol por fluoroimunoensaio (FIA), utilizou-se o método do cortisol marcado por uma fluorescência, a metodologia foi efectuada no aparelho *Perkin-Elmer modelo 1000*. Para anular a interferência das proteínas endógenas foi utilizado um salicilato. [Pourfarzane M1980]

- Novamente a problemática levantada por Doumas e 1979 sobre a uniformização das unidades de medida, a necessidade de minimizar o duplo sentido dos símbolos, em determinados tipos de dados como por exemplo o símbolo da transmitância, aspectos ligados a espectrometria de absorção e outros aspectos da química clínica, que abrangem outras áreas científicas. [Dybkaer R1980]

- A química clínica publica um suplemento de cerca de 500 páginas que relacionam a doença e os resultados dos testes laboratoriais. [Friedman RB1980]

1981

- Ciclosporina, determinado por HPLC obtendo-se o resultado em dez minutos, revelou grande sensibilidade, assim como a linearidade e a reprodutibilidade. Um grande auxílio para a monitorização deste fármaco imunossupressor, uma terapia para inibir probabilidades de rejeição do órgão ou tecido implantado no hospedeiro. A possibilidade de determinar baixos níveis séricos constitui uma técnica adequada para os doentes com esta terapêutica. [Sawchuk RJ1981]

- Proteómica uma técnica de alta resolução, inovadora, executada por eletroforese bidimensional, com programas especializados de imagem, que permitem a determinação de centenas de proteínas numa amostra biológica, sendo esta abordagem facilitadora da compreensão da actividade enzimática, que necessitaria de varias determinações pelos métodos anteriores. [Anderson NL1981]

- Determinação de aminoácidos, péptidos e aminas na urina por eletroforese capilar, com detector de fluorescência para as bandas formadas no capilar de vidro. [Jorgenson JW1981]

- FPIA (Fluorescence Polarization Immuno Assay), uma nova metodologia, por fluorescência utilizada para quantificar analitos existentes em baixas concentrações nos fluidos biológicos, como fármacos hormonas. O fundamento é a ligação anticorpo antigénio, que quando acontece emite fluorescência. Esta metodologia é também utilizada em fármacos como a gentamicina, fenitoina, teofilina, fenobarbital e comparada a outros métodos de referência revelou-se de elevada sensibilidade e especificidade.

- Os aminoglicosídeos, fármacos inibidores da síntese proteica de algumas bactérias, devido aos efeitos adversos que podem ocasionar exigem uma rigorosa monitorização, e a técnica FPIA utilizada para este efeito revelou-se exacta e precisa mesmo para concentrações mínimas de fármaco. [Jolley ME1981]

- Determinação do glicagina (hormona produzida nas células do pâncreas, responsável pelo aumento da glicemia) com técnica de RIA. [Nishino T1981]

1982

- A síndrome de imunodeficiência adquirida *Acquired immune deficiency syndrome* (AIDS) é reconhecida como uma doença.

The AIDS disease is recognized. [R.Robert2004: 2440]

- A determinação da hormona responsável pelo crescimento e divisão celular, assim como da insulina; pela técnica RIA, as vantagens em sensibilidade e especificidade desta técnica revela ser um método adequado para uso clínico [Baxter RC1982]

- A determinação do factor VIII, um dos factores da coagulação, por ELISA comparada com outras técnicas de radioimunoensaio e fluoroimunoensaio conclui-se devido a sua sensibilidade, especificidade e simplicidade ser uma técnica útil para diagnóstico clínico em doentes com hemofilia. [Cejka J1982]

- Determinação dos aminoácidos no soro e na urina, processado por HPLC, tendo sido utilizando um tratamento prévio com ácido iodo acético para reforçar a fraca fluorescência da cisteína, uma tecnologia aplicada a outros fluidos fisiológicos, de elevada sensibilidade e especificidade. [Turnell DC1982]

- Uma imuno-electroforese específica, electroimunoensaio, para a determinação da apolipoproteína A-1, uma fracção da proteína de alta densidade HDL e a apolipoproteína B uma fracção da proteína de baixa densidade a VLDL.

Uma metodologia de grande sensibilidade, especificidade e de baixo custo revelou ser um bom contributo para a triagem de doença cardíaca. [Fruchart JC1982]

- Uma nova proposta de avaliação dos resultados.

A necessidade de uma estreita relação do laboratório com o clínico. A tomada de decisão do clínico deve ser com base na avaliação prévia do doente e dos resultados do laboratório. Os resultados não devem ser dados de uma forma qualitativa (negativa-positiva), o resultado deve ser objectivo, de modo a dar ao clínico uma informação precisa, para que o clínico possa declarar doente ou não doente com base nestes resultados e nas anomalias observadas ou com base nas queixas do doente. [Albert A1982]

"(...)I believe that the proposed approach can significantly improve the diagnostic decision-making process based on clinical laboratory tests. Close collaboration between the clinician and the clinical laboratory staff is necessary to develop the data base. Once this is done the information can be stored in a laboratory computer system as described above and laboratory results may be reported together with their likelihood ratio. Combining these L-values with prior assessment p about the patient's having disease D, the clinician can revise his diagnostic probabilities with respect to his patient's status.(...)" [Albert A1982:1118-1119]

1983

- O processador de texto Word – uma máquina de dactilografar com memória que permite guardar páginas de informação. [R.Robert2004: 2441]

- A comunicação entre computadores:

TPC/IP definição de um conjunto de protocolos de comunicação que ligam computadores em rede, TCP *Transmission Control Protocol* (Protocolo de Controle de Transmissão) e IP *Internet Protocol* (Protocolo de Intervenção). [R.Robert2004: 2441]

- Uma alternativa na substituição dos ensaios radioactivos nocivos ao operador e ao ambiente, utilizando sondas provenientes do meio ambiente:

Os reagentes fluorescentes “Lantanídeos” são elementos químicos existentes na crosta terrestre, fazendo parte da constituição dos minerais, têm sido muito utilizados, como quelatos porque reduzem o sinal de fundo de fluorescência e aumentam a sensibilidade do método, em técnicas de fluoroimunoensaio. A leitura é efectuada por absorvância na zona ultra violeta, num fluorómetro. Uma técnica de grande sensibilidade e especificidade. [Soini E1983]

- A alfa-fetoproteína determinada por técnica de quimioluminescência. Um éster de acridina (um composto orgânico existente na natureza com afinidade para o DNA) devido á sua propriedade ligante ao ADN e ARN pode ser utilizado como biomarcador de proteínas que mesmo em quantidades muito baixas podem ser quantificadas, Revelou alta sensibilidade e especificidade. [Weeks I1983]

- *Um outro aspecto de imunoensaio* LIA (Latex immunoassay) para a quantificação de proteínas, a ferritina, a β 2 microglobulina, a proteína de ligação do retinol a albumina, utilizando uma metodologia de aglutinação por um reagente látex. Da reacção resultante da interacção antigénio, anticorpo, forma-se um precipitado visível, quantificado num contador de partículas *Pacia*, sendo possível automatizar-se, complementando com um sistema em que as partículas transitam num fluxo contínuo. Aumentando o tempo de incubação da reacção, aumenta-se a precisão do teste. [Bernard AM1983]

- CA19-9 um marcador tumoral específico para a neoplasia pancreática, com metodologia de radioimunoensaio IRMA (Immuno radio metric assay), o anticorpo monoclonal marcado. Este método revelou ser de grande sensibilidade e especificidade para os casos referidos, podendo constituir uma técnica de monitorização terapêutica. [Del Villano1983]

- A determinação da ciclosporina por técnica de HPLC, todos os metabolitos do fármaco foram quantificados no mesmo cromatograma, comparada a técnica por RIA, revelou maior sensibilidade e especificidade. O objectivo do estudo, de definir o intervalo terapêutico durante a monitorização foi conseguido. [Carruthers SG1983]

1984

- Nova tecnologia para a determinação de moléculas de baixo peso molecular Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear ou espectroscopia (NMR), em que o princípio se baseia na propriedade magnética de certos núcleos atômicos, de átomos ou moléculas.

Esta metodologia revela-se eficaz para a quantificação, na rotina para os compostos endógenos como a creatinina, glicose e para os metabolitos de fármacos. [Bales JR1984]

- A mesma metodologia eficaz para se detectar a existência dos metabolitos do fármaco acetamifeno na urina. [Bales JR1984]

- Dois métodos, utilizando técnica por electroforese, para determinar as isoenzimas da fosfatase alcalina de origem óssea, do fígado, do intestino e da placenta, tendo um dos métodos sofrido uma alteração, que consistiu em embeber a membrana de acetato celulose num tampão contendo lecitina de germe de trigo, que funcionou como uma proteína de ligação possibilitando a diferenciação das bandas na membrana que tinha sido tratada com germe de trigo. [Rosalki SB1984]

- Uma técnica óptica específica para detectar e monitorizar as reacções anticorpo-antigénio na interface sólido-líquido.

Esta técnica com base no princípio imunofluorimétrico em que o anticorpo marcado com fluoresceína foi monitorizado, para reduzir as interferências de fundo, em que a fluorescência é apenas detectada quando se verifica a ligação formando o complexo anticorpo-antigénio.

Esta tecnologia terá grande importância na investigação da doença e na sua monitorização terapêutica. [Sutherland RM 1984]

- Novo estudo por HPLC para quantificação de neurotransmissores. Na área das doenças degenerativas de Alzheimer, nas doenças do foro psicopatológico como a esquizofrenia e noutras situações, é determinante em muitos aspectos incluindo a monitorização terapêutica, que muitas vezes é administrada com vários fármacos em simultâneo. Obter uma selectividade que corrija os erros quantitativos de modo a que a avaliação dos neurotransmissores possa ter utilidade clínica. [Matson WR1984]

- A electroforese bidimensional na determinação de apolipoproteínas. A utilização de gel e computadorização de imagem bidimensional permitiu obter informações sobre as concentrações

plasmáticas da apolipoproteína e sua distribuição em indivíduos normais e indivíduos com dislipoproteinemias. E ainda permitiu uma diferenciação que levou à descoberta de duas novas apolipoproteínas plasmáticas a Apo D e a Apo H. [Sprecher DL1984]

- A focagem isoelectrica na determinação de bandas oligoclonais IgG (são imunoglobulinas específicas sintetizadas, derivados de linfócitos B) no LCR.

Esta determinação, que deve ser acompanhada da análise no plasma para evitar erros de interpretação, auxilia no diagnóstico da esclerose múltipla e outras doenças do sistema nervoso central. [Olsson T1984]

- A tecnologia RIA na determinação da acetilcolina. A dificuldade na quantificação em técnicas anteriores era devido a concentrações muito baixas de acetilcolina. No plasma, este problema foi resolvido com a utilização de um anti-soro específico. A sensibilidade obtida está relacionada com a afinidade do anticorpo [Nicholson WE1984]

- A RIA na determinação da digoxina, uma substancia endógena, pode ter uma reacção com o anticorpo e competir tornando-se imuno-reactiva, esta substancia pode por conseguinte ligar-se ao mesmo receptor celular, como a própria droga. Na técnica, para identificar esta digoxina imuno-reactiva, foi utilizado plasma e urina e foram utilizados tubos revestidos por anticorpo. [Balzan S1984]

1985

- Técnica de HPLC para determinar a homocisteína, um método modificado de outro de 1984, efetuada no soro e na urina.

A Homocisteina é um metabolito endógeno que se apresenta ligado á albumina, a sua concentração pode ser afectada por determinados fármacos. A determinação deste metabolito na urina e no plasma pode ser uma contribuição importante nos distúrbios metabólicos, no caso de indivíduos submetidos a determinadas terapias [Refsum H1985]

- Endonucleases de restrição (enzimas de origem bacteriana que cortam sequencias de cadeias de DNA) em substituição do fenol que devido á sua fácil degradação formando entre outros componentes radicais livres, pondo em risco a segurança biológica e a possibilidade de falsear os resultados do DNA. Esta técnica alem destas vantagens, é simples de executar e fácil no isolamento do DNA genómico, tornando-se um grande contributo no estudo das doenças genéticas [Buffone GJ1985]

- Espectrometria de absorção atómica na determinação do alumínio no soro, urina e tecidos, nos doentes hemodialisados, com o ajuste do tempo e da temperatura do forno do gradiente, o método

revelou-se de elevada sensibilidade e precisão, constituindo um grande auxílio para doentes hemodialisados com intoxicações por este metal. [D'Haese PC1985]

- HPLC na determinação da ciclosporina, devido á necessidade de obter resultados que fossem mais sensíveis no que diz respeito a uma resposta adequada de imunossupressão sem ocorrência de efeitos colaterais de toxicidade, foram avaliados dois métodos RIA e HPLC, tendo sido o resultado da pesquisa inconclusivo, porque a escolha do método dependia de vários factores, um dos quais a variabilidade metabólica interindividual, que pode condicionar a escolha do método, assim como o tipo da amostra a analisar, sangue total, soro ou plasma. [Lensmeyer GL1985]

(...) the major causes of this time-based difference. Interindividual variation in the rate of metabolism and in the relative proportions of each metabolite produced (...) [Lensmeyer GL1985:200]

- São traçadas directrizes de requisitos mínimos para um pacote de processamento de dados a ser utilizado num laboratório de imunoensaio. Estas regras abrangem o *hardware*, *software* e desenho do programa, com uma linguagem de programação inerente ao laboratório de imunologia, incluindo a análise estatística para obtenção das concentrações dos analitos de amostras desconhecidas e que garantam o acompanhamento adequado dos erros intra e inter (entre) ensaios. Na opinião deste grupo de estudos os programas comerciais disponíveis devem ser desenhados de modo a serem adequadas as análises de imunoensaio.

Um dos aspectos relevantes é a representação gráfica de alta resolução adequada a uma linguagem específica de laboratório, de modo que a sua interpretação seja clara e precisa. [Dudley RA1985]

- A técnica por RMN para o diagnóstico de distúrbios metabólicos em recém-nascidos, uma resolução rápida e precisa aplicada na neonatologia para rastreio de problemas de metabolismo congénitos e na monitorização terapêutica, utilizando amostras de urina. [R.A. LLeS1985]

- HPLC como método de referência da bilirrubina total, sendo o padrão de referência soros humanos ou de albumina bovina. Verificou-se não haver nenhuma interferência nos soros de indivíduos doentes com terapias específicas. [Doumas BT1985]

1986

- Imunoturbidimetria na determinação das apolipoproteínas A, AI, AII e B, estas apolipoproteínas, foram determinadas, com outras tecnologias em doentes com doença cardíaca, sendo mais específicas do que o colesterol HDL. Efectuadas no analisador *Cobas-Bio*, em substituição da aplicação de uma técnica por nefelometria, que necessita de um aparelho específico, podendo ser adaptada a um espectrofotómetro, em laboratórios de rotina. [Rifai N1986]

- Electroforese por focagem isoeléctrica na determinação da apolipoproteína E, encontrada nas proteínas de baixa densidade VLDL, LDL e na de alta densidade HDL, que formam isoformas diferentes.

Um estudo do polimorfismo, em indivíduos heterozigóticos com determinadas características e a prevalência dos riscos cardíacos e o enfarto do miocárdio. [Lenzen HJ1986]

- HPLC para determinação de catecolaminas no plasma e seus metabolitos, podem fornecer informações importantes como a do metabolito (DHPG-Didroxyphenylglycol), tendo sido constatado que após administração terapêutica adequada a distúrbios inerentes foi possível validar o método, o que constitui informação adequada na monitorização terapêutica destes fármacos. [Eisenhofer G1986]

- FPLC (*Fast Protein Liquid Chromatography*), uma cromatografia líquida, em que na fase móvel, um tampão se desloca pela fase estacionária constituído por uma resina composta de grânulos geralmente de agarose reticulada, empacotada numa coluna.

Esta tecnologia para separar proteínas, possibilitou a determinação da hemoglobina A₁. O estudo foi desenhado de modo a garantir a especificidade, a precisão e constituindo um auxiliar importante para diagnóstico em substituição dos testes tolerância da glicose. [Jeppsson JO1986]

- Espectrofotometria na avaliação dos activadores do plasminogénio tecidual, utilizou-se um aparelho *Shimadzu*.

O plasminogénio é um factor que interfere na coagulação importante nas trombozes venosas, em situações de septicemias e em grávidas em risco e outros distúrbios relacionados com doença tromboembólica, [Chmielewska J1986]

- Um radioimunoensaio (IRMA), técnica baseada no método RIA em que as moléculas são marcadas com isótopos radioactivos mas com uma sensibilidade maior, utilizada na gonadotrofina coriónica (HCG), uma hormona desenvolvida durante a gravidez. [Boscato LM1986]

1987

- IRMA um método utilizado na parathormona PTH, hormona que regula o metabolismo do calcio, devido às especificidades e a um baixo limite de detecção da técnica, torna-se possível determinar apesar da baixa concentração desta hormona da paratiróide.

Uma tecnologia de grande ajuda nos distúrbios desta origem. [Nussbaum SR1987]

- Espectrofotometria, avaliação do marcador indicador da reabsorção do osso, com método enzimático.

Esta tecnologia permite a avaliação do metabolismo do osso. [Lau KH1987]

- Método enzimático na determinação da lipoproteína Lp(a), uma variante da apolipoproteína B, detectada em doentes hemodialisados. Neste estudo verificou-se uma correlação entre os altos níveis de triglicéridos e os altos níveis da Lp(a). Foi comprovada a predisposição destes doentes para as doenças vasculares. [Parra HJ1987]

- Ensaio imunoenzimático na determinação do TSH, desenvolvido por um aparelho da *Abbott*, com níveis de detecção baixos, devido à interferência da terapêutica com glucocorticóides (hormonas produzidas nas glândulas supra-renais responsáveis por inibir os processos inflamatórios), não foi possível a sua avaliação devido as altas concentrações séricas. Mas o teste pode ser utilizado na triagem da funcionalidade da tiróide. [Spencer C1987]

- HPLC utilizado na determinação da neopterina (um produto do catabolismo dos macrófagos). Com base num estudo anterior verificando-se o aumento da neopterina (produto resultante da activação do sistema imunitário) em doentes com tumores malignos e doenças virais, analisou-se a neopterina e em simultâneo a creatinina. Uma tecnologia adequada para um laboratório de rotina, permite monitorizar o estado de activação de imunidade celular. [Werner ER1987]

- HPLC e RIA na determinação da neopterina na urina. Um estudo comparativo com as duas técnicas, conclui-se que o método RIA serve para quantificar a neopterina no soro mas não produz bons resultados para a urina, concluindo-se que o método HPLC é o mais adequado para as duas matrizes biológicas. [Werner ER1987]

- RIA, na determinação do factor tumoral TNF (*Tumor Necrosis Factors*) é uma proteína com actividade citotóxica, fabricada pelo macrófago, uma célula da linhagem do monócito, em que os níveis são elevados em doentes com doenças parasitárias, neoplasias e doentes com choque séptico. Foi comprovada a elevada especificidade e sensibilidade. [Teppo AM1987]

1988

- Ensaio imunoenzimático dirigido para a coagulação intravascular disseminada CID. Este processo analítico foi confirmado para o estudo da produção excessiva da trombina, em casos de hipercoagulação, mas devido à falta de confirmação com um padrão de ouro foi inconclusivo para a CID, sendo ainda necessário a quantificação dos factores da coagulação para esta situação. [Hoek JA1988]

- HPLC aplicada na determinação do grupo caroteno como agentes antioxidantes e anticancerígeno, devido a interferências nos componentes em estudo, este estudo foi inconclusivo, a exactidão do método não foi comprovada. [Thurnham DI1988]

- Surgem publicações sobre os lípidos, um grupo de especialistas do “*National Cholesterol Education Program*”, traçam directrizes que englobam o colesterol, determinando os níveis altos, que de acordo com idade, a partir dos quais são considerado patológicos; a avaliação em paralelo da lipoproteína de baixa densidade LDL; a terapia através da dieta recomendada; a terapia farmacológica; orientações de outros factores que contribuem para a prevenção da doença cardíaca,

(...) *Current status of blood cholesterol measurement in clinical laboratories in the United States: a report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program*(...) [R.Robert2004:2446]

- Radioimunoensaio, um estudo para a avaliação da superóxido dismutase SOD (um enzima que interfere contra os radicais livres), testaram-se as amostras de plasma de indivíduos com neoplasia do intestino grosso.

Esta enzima apresenta níveis séricos baixos em doenças do foro hematológico, em todas as leucemias. [Sun Y 1988]

1989

- O diagnóstico através do ADN uma nova perspectiva de diagnóstico com a intervenção da genética molecular.

A visão da doença anteriormente vista com o estudo de uma proteína, ou mesmo de uma molécula passa a ser encarada como o estudo sequencial do ADN, uma visão mais abrangente que permite na sua sequenciação detectar nos alelos, alterações que podem proporcionar informações sobre a probabilidade de um indivíduo contrair uma doença ou entender a causa da doença.

A genética molecular faculta informações, além do tratamento da doença a sua prevenção. Com uma função mais preditiva possibilita definir riscos antes destes serem expressos; o processo de mutações que originam as neoplasias, a inserção de uma sequência viral no genoma humano como o caso da SIDA; a interpretação da possibilidades de vários genes serem a causa de muitas doenças como as cardíacas e outras, todas estas informações são possíveis devido ao estudo da genética molecular.

“(...) *Automated routine estimations are now carried out and interpreted by machines; the skilled staff members required are more likely to have degrees in electronics than medicine or biochemistry. The role of molecular genetics is more ambiguous; it is inherently reductionist, in that it attempts to explain most clinical phenomena in terms of DNA sequence alone.*” [Williamson R 1989:2165]

- Electroforese em gel de agarose com sondas de RFLP radioactivas para detectar o polimorfismo atribuído ao cromossoma X, no rastreio da distrofia muscular de Duchenne (uma doença degenerativa com falência muscular progressiva). Uma tecnologia útil no rastreio da doença. ^{Prior}

TW1989

- Quimioluminescência, um ensaio sensível desenvolvido com sondas de ADN marcadas por um éster acrídio constituídas por oligonucleótidos conhecidos que irão hibridar com as sequencias alvo, a reacção é detectada por mecanismos de quimioluminescência. O estudo foi direccionado para as alterações na cadeia em cromossomas humanos que desencadeiam a leucemia mielóide crónica. O método foi comprovado com sucesso e pode servir para várias aplicações. ^[Arnold LJ1989]

- HPLC para a determinação da homocisteína plasmática, nesta técnica houve a preocupação de precaver os cuidados de manuseamento e armazenamento da amostra; sendo a homocisteína facilmente degradada pela sua ligação as outras proteínas plasmáticas, a sua determinação tem tido várias condicionantes levando à obtenção de valores baixos; no HPLC foi conectado um tabuleiro com o controle automático da temperatura, a colocação de uma pré-coluna que impede a deslocação das impurezas que levam a perdas de eficiência, a injeção da amostra através de um sistema automático. Todos estes requisitos contribuíram para uma alta eficiência e tendo sido comparado com um ensaio radioenzimático revelou-se de alta precisão, proporcionando aos clínicos informações de diagnóstico para doentes com desequilíbrios a nível do metabolismo da homocisteína, derivados da diminuição da capacidade enzimática provocada por baixa de cofactores envolvidos nesse processo; também para os insuficientes renais cuja determinação indica um aumento dos valores, assim como pode ser um indicador prematuro de doença cardiovascular.

Esta metodologia permite a determinação de 70 amostras durante 24h. ^[Refsum H1989]

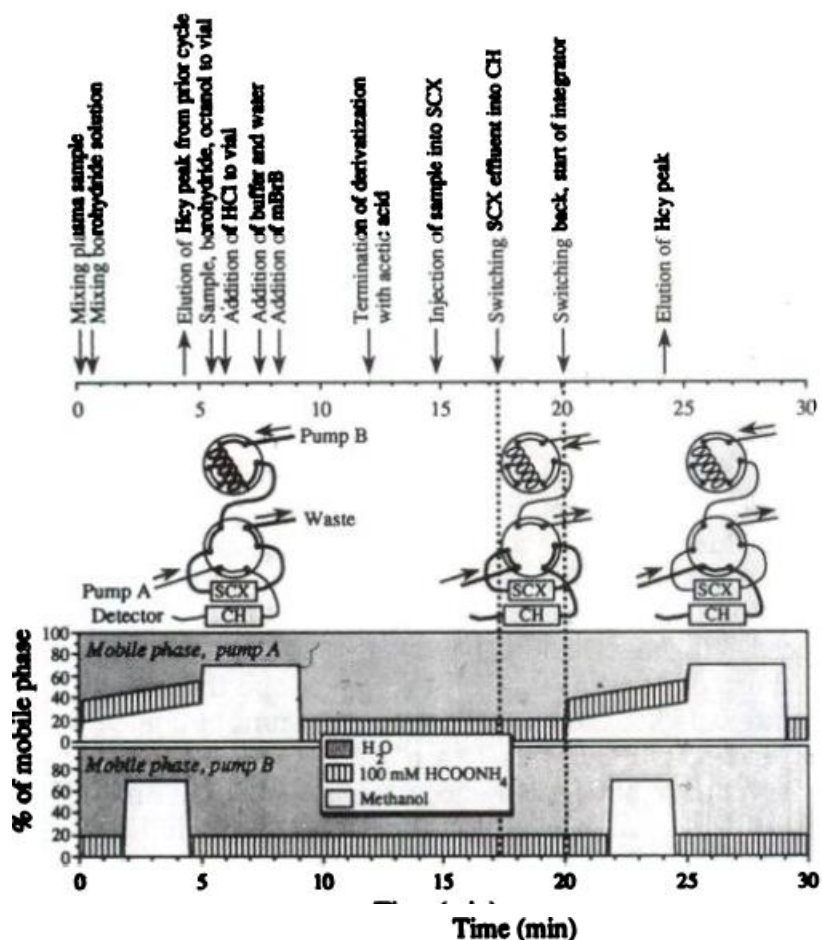


Fig. 1. Time-table for one cycle of sample preparation and chromatography carried out by the Gilson combined sample processor and sample injector

The upper panel shows the sample handling, including the derivatization procedure; the middle panel the column-switching device; and the lower panel the composition of the mobile phases delivered by pumps A and B. Hcy, homocysteine

Adaptado de Refsum.H Automated Fluorescence Assay for Determining Total Homocysteine in Plasma CLIN. CHEM. 35/9,1921-1927 (1989)

- Um novo método de cromatografia gasosa e espectrometria de massa (GC/MS) analisa os ácidos orgânicos no plasma, urina, líquido amniótico, e outras matrizes biológicas como o líquido amniótico, com possível adaptação ao líquido cefalorraquidiano e amostras de tecidos depois de homogeneizados. Este método revelou-se de grande sensibilidade e especificidade podendo ser aplicado no controle dos distúrbios metabólicos do recém-nascido, na monitorização da terapêutica.

[Hoffmann G1989]

- GC/MS na avaliação dos metabolitos da cocaína por (GC/MS) nas urinas de recém-nascidos, indicam que os valores positivos de benzodiazepinas persistem até cerca de 120h após o nascimento.

Estas avaliações permitem compreender os estados comportamentais dos recém-nascidos, assim como as alterações físicas, a nível do diâmetro cefálico e baixo peso á nascença devido á exposição prolongada desta droga. [Chasnoff IJ1989]

1990

Neste artigo discutem-se as avaliações dos resultados e várias considerações relacionadas com a mesma.

Considerar limites para o erro aleatório, relacionado com a imprecisão do resultado e a aplicação de calibradores inerentes aos vários métodos, aplicação de controlos internos e externos, erros atribuídos aos lotes dos reagentes, as temperaturas de incubação, estipular intervalos de referencia na determinação dos diversos analitos, estabelecer limites para os valores normais e patológicos, rever todos os erros atribuídos durante o ensaio.

Correlacionar a imprecisão do resultado à variabilidade biológica.

Considerar a possibilidade do erro da própria amostra, a proveniência da amostra se de um doente internado ou ambulatorio (supostamente saudável) como análises de rotina, a interferência da terapêutica na variação dos resultados.

Todas estas e outras abordagens são levantadas, com o objectivo de que os resultados tenham níveis de segurança aceitáveis de acordo com a situação clinica do doente que possa garantir ao clínico confiança, de modo a este poder tomar medidas concretas na monitorização do doente na terapêutica adequada à doença, de modo a que o doente possa retornar ao equilíbrio homeostático.

[Fraser CG1990]

- HPLC para a purificação da proteína colagénio tipo I com a separação por técnica de electroforese em gel de poliácridamida. Neste ensaio a purificação obtida com sucesso pode vir a substituir os imunoensaios da osteocalcina (proteína do osso não colagénio) tendo sido verificada uma grande variabilidade entre ensaios e não existir uma padronização.

Poderá ser uma aplicação na monitorização das doenças metabólicas do osso, na osteoporose e ainda como indicador de crescimento na área da pediatria, em crianças com doenças crónicas a nível ósseo, ou submetidas a tratamentos hormonais.

Um teste não invasivo com aplicação em várias áreas mas com a avaliação dependente da variedade biológica, uma vez que em doentes com a função hepática diminuída pode haver alterações significativas dos resultados. [Melkko J1990]

- RIA na determinação da ciclosporina, técnica realizada num aparelho *Abbott TDx*.

O objectivo deste método foi o de possibilitar a quantificação do analito ciclosporina num laboratório de rotina. Esta técnica revelou grande sensibilidade e especificidade, podendo ser efectuada em amostras colhidas em EDTA ou heparina. [Yatscoff RW1990]

1991

- SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate Polycrylamide Gel Electrophoresis) electroforese num gel específico que confere á proteína uma carga negativa; a migração da proteína no gel dá-se de acordo com o tamanho, as menores migram mais rápido do que as maiores. Esta técnica foi utilizada para avaliar as concentrações de PSA, no soro.

A avaliação desta glicoproteína poderá ser útil no rastreio da neoplasia da próstata, embora possam aparecer valores elevados em situações menos graves. [Lilja H1991]

Marcadores de doença cardíaca:

- Com o método ELISA utilizado num aparelho da *Boehringer*, efectuou-se um estudo comparativo do Creatina Kinase CK, fracção CK MB e a Troponina T.

Concluiu-se que a avaliação simultânea da troponina T e o CK e MB, revelou ser um meio de diagnóstico para lesão cardíaca. [Gerhardt W1991]

- Ensaio imunoenzimático na determinação da troponina T em aparelho da *Boehringer*.

Uma avaliação efectuada no soro de doentes medicados para infarto do miocárdio, este parâmetro analítico foi avaliado na monitorização da doença, revelando grande sensibilidade e especificidade, um meio credível de diagnóstico para um estudo precoce de infarto agudo do miocárdio (IAM). [Mair J1991]

- Imunoensaio enzimático, técnica DEIA (DNA enzyme immunoassay), uma técnica de hibridação, por sondas marcadas, constituídas por um fragmento pequeno de ADN do vírus marcado com biotina que se ligam ao ADN alvo (DNA que se pretende pesquisar), resultando de um processamento por PCR, uma cadeia híbrida, identificada por colorimetria num espectrofotómetro.

Esta técnica utilizada para detectar a presença do vírus da hepatite B em soros, revelou grande sensibilidade e especificidade, útil num laboratório de rotina. [Mantero G1991]

- CLIA/88. Traça novas directrizes orientadas para a os testes de proficiência obrigatórios, nos laboratórios de análises clínicas, com aplicações de sanções, no caso de se verificar não conformidades, como garantia da qualidade do resultado.

O Conselho de Sistemas de Referencia Nacional para os laboratórios (NRSCL) é responsável pela supervisão no desenvolvimento de métodos de referência a utilizar com o objectivo de melhorar a precisão dos métodos analíticos.

O Comité Nacional para o Padrão no Laboratório Clínico (NCCLS) supervisiona a utilização do padrão do ensaio assim como todo o material referente ao mesmo.

São definidos os erros aleatórios e os erros sistemáticos que determinam o grau de incerteza nos resultados.

Todas as directrizes são traçadas com o fim de que o método analítico utilizado num laboratório de análises clínicas, proporcione um resultado preciso, inequívoco que possa corresponder ao fim a que foi solicitado; em conclusão são traçadas orientações que determinem maior exigência analítica.

[Bowers GN1991]

- ELISA, técnica utilizada nos estudos, correlacionando factores de coagulação e a lipoproteína Lp(a), estudo direccionado para doenças coronárias, revelam uma complexidade entre estes parâmetros, nos dois sexos.

Sendo no entanto relevantes as marcadas alterações destes com a evolução da idade, apresentando valores elevados na Lp(a) associada ao aumento da proteína C, do fibrinogénio e a Antitrombina III (ATIII), assim como ao aumento da pressão sistólica (PAS). Um contributo como um indicativo prévio de doença cardíaca. [Heinrich J1991]

1992

- ELISA, tecnologia aplicada num aparelho da *Boehringer Mannheim*, para determinação de troponina T, com a utilização de anticorpos monoclonais, um dos parâmetros fundamentais para o diagnóstico do enfarte do miocárdio.

Este ensaio de captura do anticorpo em fase sólida, permitiu a identificação, em pequenas quantidades de células danificadas do miocárdio. Tendo sido realizado em 14 doentes com dano no músculo-esquelético revelou-se de alta sensibilidade e eficiência, em comparação com os resultados com os métodos enzimáticos. [Katus HA1992]

- IRMA (immunoradiometric assay) uma tecnologia semelhante á ELISA em que o conjugado anticorpo- antigénio é marcado por uma substância radioactiva e a reacção é lida num contador gama. Este método de captura de anticorpos marcados, utilizado para detectar a presença de um factor hormonal da paratiróide, responsável pela hipercalcemia, associada a distúrbios da paratiróide em doentes com neoplasias. Foram clonados os genes revelando uma proteína não conhecida relacionada com a hormona paratiróide, verificou-se grande sensibilidade e especificidade, sendo um ensaio de uma simples execução, para o rastreio de tumores relacionados com hipercalcemias. [Pandian MR1992]

- Teste rápido, baseado na reacção oxidativa da glicose, uma tecnologia de espectroscopia por infra vermelhos.

Este teste não invasivo da glicose apresentou várias condicionantes como a temperatura, a interferência da hemoglobina e produtos do metabolismo.

O objectivo desta tecnologia é permitir a monitorização ambulatoria de diabéticos. [Robinson MR1992]

- HPLC na determinação da LDL, após ultracentrifugação, leitura por fluorescência, técnica efectuada em amostra de plasma, revelou elevada sensibilidade, constituindo um meio de diagnóstico para o rastreio da arteriosclerose. [Kleinveld HA1992]

1993

- Antígenos prostáticos PSA.

- Imunofluorimetria, na pesquisa de PSA e no complexo PSA-ACT, um ensaio de captura de antígenos, este processo foi simultâneo entre os dois compostos, a técnica foi comparada a outra de determinação de PSA e revelou-se de grande sensibilidade e especificidade, mas a fracção PSA-ACT revelou maior sensibilidade.

Uma grande aplicabilidade no diagnóstico do cancro da próstata. [Leinonen J 1993]

- Imunofluorimetria, um novo ensaio baseado num estudo em 1992, ultra-sensível, com anticorpos monoclonais e policlonais. Dirigido a doentes submetidos a prostatectomia, como meio de rastreio da proliferação células neoplásicas. [Yu H 1993]

- Um estudo comparativo de três técnicas com base na utilização de anticorpos monoclonais e policlonais revelaram que a discrepância pode ser possível devido a reacção das várias formas de PSA pelos anticorpos utilizados. Constituindo no entanto cada método para um caso específico um meio útil para rastreio da neoplasia da próstata ou para rastreio da recorrência da mesma. [Zhou AM1993]

- A taxa de degradação do colagénio, estudo desenvolvido num tipo de colagénio específico tipo I (ICTP) (um derivado da degradação do colagénio), desenvolvida com uma técnica de radioimunoensaio; após extracção do colagénio do osso do fémur humano, por desnaturação com uma collagenase bacteriana, purificação por técnica de HPLC, reavaliação do grau de pureza por electroforese em SDS-PAGE e sequenciação dos aminoácidos por uma tecnologia da *Applied Biosystems*

Revelou-se uma técnica útil para a monitorização do metabolismo do colagénio ósseo, nas doenças como a artrite reumatóide e o mieloma múltiplo. [Risteli J1993]

- A quantificação da insulina, um ensaio imunoenzimático, em soro ou plasma, revelou-se uma técnica sensível, precisa e reprodutível, tendo sido eliminadas as interferências observadas, mantendo-se apenas a necessidade de observação cuidadosa dos resultados das amostras com hemólise e o controlo rigoroso no armazenamento. [Andersen L1993]

- Um método de avaliação de indicadores biológicos do *stress* oxidativo, que apresentam níveis elevados em situações como aterosclerose, doenças cardiovasculares, insuficiências renais crónicas em doentes submetidos a hemodialise, diabetes insulina-dependentes, pancreatites crónicas e doenças hepáticas.

A determinação do malondialdeído MDA (Produto resultante do *stress* oxidativo ocorrido na membrana celular, resultante de uma reacção de peroxidase lipídica, que funciona como indicador biológico) por fluorimetria, apresenta determinadas condicionantes relativas ao tipo de amostra soro ou plasma em colheita com heparina, ao condicionamento das amostras, ao procedimento no momento da extracção relativos ao pH da reacção.

Estas condicionantes revelaram algumas alterações nas determinações como a realizada em amostras de plasma heparinizado, revelando valores mais baixos do que os valores do soro, a necessidade de um ajuste de pH sendo a amostra de soro ou de plasma, sendo que o soro requer um pH ligeiramente mais elevado do que o do plasma.

Depois de resolvidas estas condicionantes metodológicas, o teste revelou-se adequado para um rastreio em indivíduos saudáveis e para controlo em casos patológicos. [Wasowicz W1993]

1994

- Homocisteína (H), esta proteína avaliada por quimioluminescência; novo estudo desta proteína direccionado para a avaliação precoce de risco de doença cardíaca em indivíduos com familiares com antecedentes de doenças cardíacas.

Sabendo que o factor H se encontra na circulação sanguínea e 70% ligada a albumina, só uma pequena percentagem se apresenta livre. O aumento da forma livre está associada ao aumento do ácido úrico e da creatinina mas não se tem observado uma relação directa com os marcadores cardíacos. Verificou-se uma correlação entre a H e a fibrina devido à afinidade desta proteína com a fibrina que pode levar a activar os factores que favorecem a trombose venosa. Houve necessidade de um ajuste nesta técnica devido a factores que interferiram, como a vitamina B6, B12 e ácido fólico, determinando valores mais elevados da forma livre. [Wu LL1994]

- Um estudo utilizando a técnica por HPLC, na determinação da homocisteína, cisteína e a cisteinilglicina, em duas matrizes diferentes soro e plasma, revelaram além de outras evidências que as amostras quantificadas em plasma apresentavam valores mais baixos do que as mesmas amostras colhidas em soros.

A metodologia revelou grande sensibilidade e especificidade. [Jacobsen DW1994]

- A cistatina C, (é uma proteína não glicosilada, de baixo peso molecular (13 Kda), filtrada livremente pelo glomérulo renal.) determinada por um método turbidimétrico, em amostras de soro e de plasma, utilizando para o efeito um aparelho da marca *Cobas*.

O objectivo do estudo foi a determinação desta proteína, com uma metodologia rápida adaptada as necessidades de um laboratório numa urgência hospitalar. [KyhseA1994]

- Ensaio por ELISA na determinação do colagénio nos produtos de degradação na urina foi bastante importante como um marcador de reabsorção óssea.

Constatou-se um bom desempenho na técnica utilizada, não se tendo verificado degradação do antígeno nas urinas, tendo sido estas congeladas e descongeladas, os resultados mantiveram-se inalterados até sete dias. [Bonde M1994]

- A determinação de cTnT. Complexo Troponínico é constituído por três subunidades diferentes - troponina T (TnT), troponina I (TnI) e troponina C (TnC). Cada subunidade é responsável por uma função complexa, da contracção muscular. Em primeiro lugar cTnI, mais tarde cTnT foram utilizadas como marcadores de morte celular cardíaca. Agora ambas são amplamente utilizadas para o diagnóstico de enfarte agudo do miocárdio (AMI), angina instável, pós-cirurgia trauma do miocárdio e outras doenças relacionadas com a lesão do músculo cardíaco, a subunidade cTnT da troponina, como marcador de doença cardíaca, em amostras de soro e plasma, com técnica de imunoensaio enzimático utilizando um aparelho da *Boehringer Mannheim*. A técnica revelou não haver discrepância entre os dois tipos de amostras. [Wu AH1994]

- É criado um novo controlo de referência em substituição do anterior aprovado pela Organização Mundial de Saúde, para colmatar as interferências nas novas tecnologias de imunoensaios ópticos, causadas pela turbidez verificada nas leituras, aumentando os sinais de ruído das determinações.

Com directrizes concretas, em relação às medidas dirigidas aos factores responsáveis por essas interferências, com o objectivo de uniformizar a nível mundial o material de referência e melhorar a qualidade nos aspectos:

As proteínas deveriam ser mantidas no mesmo estado que as proteínas das amostras testadas, para isso foi inibida a actividade trombina na coagulação, uma dos factores que poderiam ser a causa da turvação.

A turvação era mais acentuada no plasma do que no soro fresco e esta turvação acentuava-se ao longo do tempo de armazenamento devido á acção do fibrinogénio, o que provocava um sinal de ruído nas técnicas de nefelometria e turbidimetria.

Para colmatar esta dificuldade, a confecção do novo controlo obedeceu a determinados condicionantes como na recolha das amostras:

A recolha de amostras em voluntários submetidos a jejum durante uma noite, permitindo a coagulação espontânea do sangue em tubos de vidro, rejeitando todas as amostras que apresentaram turvação, icterícia ou hemólise e as lipoproteínas remanescentes foram capturadas com micropartículas de sílica.

- As diferenças nas características das amostras relativas ao dador foram também precavidas com a gravação das informações dos dadores.

- As amostras de dadores com características semelhantes foram reagrupadas.
 - Foram efetuados vários testes para agentes infecciosos incluindo os que eram exigidos pela lei.
 - O novo controlo de referência foi efectuado a partir de soro fresco, obtido coma coagulação naturalmente.
 - O sangue foi colhido a partir de cem indivíduos saudáveis em cinco cidades europeias. Assim um grupo de dadores semelhantes poderia ser mantido no futuro e os dados demográficos para cada dador foram registados, incluindo o país de origem, raça, idade, sexo, peso, e grupo sanguíneo.
 - As colecções individuais foram testadas para H1V-1 e -2, HTLV-1, antigénio de superfície da hepatite B e anticorpo da hepatite C, com os materiais de teste aprovados por os EUA Food and Drug Administration, Washington, DC.
 - Foi testada a presença de factor reumatóide, imunoglobulinas monoclonais, e outras anormalidades identificáveis por electroforese no soro.
 - A fenotipagem foi realizada por α 1-antitripsina e haptoglobina.
 - Foi verificada a existência da hiper bilirrubinemia, hemólise, e turbidez.
 - Todas as amostras que revelaram anormalidades ou possíveis substâncias interferentes foram excluídas.
 - As amostras foram conservadas pela adição de azida de sódio, em seguida, congeladas e enviadas para o centro de processamento.
 - As amostras individuais foram descongeladas, reunidas, e deslipidadas com micropartículas pirogenada de dióxido de silício, e em seguida estabilizadas com a adição de azida de sódio, a aprotinina, e benzamidina.
 - O material foi tamponado a pH 7,2, e submetido a esterilização. Os frascos foram enchidos com 1,00 mL do material, liofilizado, e selado.
 - As colecções individuais foram testadas para H1V-1 e -2, HTLV-1, antigénio de superfície da hepatite B e Anticorpo da hepatite C, com os materiais de teste aprovados por os EUA Food and Drug Administration, Washington, DC.
 - A análise para atribuição de valores foi realizada por 27 laboratórios na Europa, nos EUA e no Japão, de acordo com a um protocolo rigoroso projectado para testar a adequação do controlo.
- Estas e outras medidas foram tomadas para garantir que fosse possível a utilização de um calibrador mundial para a análise das proteínas de soro que comprove a melhoria do desempenho global entre todos os laboratórios. No entanto, tendo em conta a heterogeneidade molecular inata das proteínas o problema nunca será completamente resolvido ^[Whicher JT1994]

1995

- A lipoproteína a ou Lp(a) é uma subclasse das lipoproteínas e é um marcador para estudos de doença aterosclerótica, como a doença coronária cardíaca e o acidente vascular cerebral. A sua determinação com várias técnicas tem revelado valores diferentes em vários estudos; neste estudo

envolvendo 723 indivíduos, com técnicas de ELISA, utilizou-se anticorpo monoclonal para a apo (a) e anticorpo policlonal para a apo (b). Concluiu-se que a especificidade do anticorpo e a heterogeneidade da apolipoproteína no tamanho afectavam na diferença dos valores. [Marcovina SM1995]

- Quimoluminescência na determinação de antioxidantes, um estudo comparativo dos efeitos do antioxidante em indivíduos normais, com ingestão de vinho tinto, vinho branco e a ingestão de doses de vitamina C. [Whitehead TP1995]

.- Comercialização do teste da Homocisteína, totalmente automatizado, por imunofluorescência, é o primeiro teste a ser comercializado pela Abbott pelo analisador IMx. Com a execução de 20 amostras em 60 minutos, de elevada sensibilidade. [Shipchandler MT1995]

- A troponina: melhor marcador do que a fracção CK-MB e a mioglobina nas primeiras horas do enfarto agudo do miocárdio; a discordância entre o aumento do valor da troponina Te da troponina I nos doentes renais, a troponina I não é expressa no feto e no tecido muscular esquelético de um indivíduo adulto saudável ou doente. Para o CKMB foi utilizada a técnica de imunoensaio enzimático, assim como a determinação das troponinas cTnT e cTnI e para a mioglobina foi utilizada técnica por imunoturbidimétrica.

Neste estudo, conclui-se que a especificidade exigida do estado do doente perante os marcadores, estava condicionada ao tempo de resposta dos resultados. [Mair J 1995]

- Espectrofotometria na determinação do nitrato e nitrito como marcador, da síntese do óxido nítrico. Foram usadas amostras de plasmas que foram desproteinizadas. Não foi possível a determinação em soro devido à rápida decomposição do nitrito para nitrato; as amostras de plasma permaneceram estáveis durante um ano de congelação. [Moshage H1995]

1996

- Aplicação de uma técnica imunoturbidimétrica, em ensaio padronizado, para avaliação da apoliproteína (apo B), componente da LDL, num estudo para estabelecer os valores de referência entre homens e mulheres, com o objectivo de determinar o valor associado a risco de doença cardíaca. [Contois JH1996]

- A quantificação por técnica de RIA da leptina, um marcador da obesidade.

O estudo revelou que a técnica depois de avaliada em simultâneo com outros parâmetros relativos á obesidade revelou grande sensibilidade e especificidade [Ma Z1996]

.- Novamente a avaliação do PSA utilizando um método ultra-sensível, com purificação por HPLC, e um método imunofluorimétrico, um estudo comparativo com um ensaio padronizado de terceira geração *Immulite*, um sistema utilizando ensaio imunoenzimático por quimiluminescência.

Neste estudo que resultou de um aperfeiçoamento da técnica descrita no ano de 1993, revelou grande sensibilidade e especificidade. [Ferguson RA1996]

-A determinação da homocisteína um parametro muito importante visto ser um importante indicador para doença aterosclerótica, um ligeiro aumento dos níveis séricos é uma informação que não se deve ignorar.

Neste estudo houve a preocupação de evitar que houvesse condições que poderiam interferir com os resultados, o défice da vitamina B12 e do ácido fólico, dois coenzimas da homocisteína, deveriam estar numa situação de equilíbrio nos indivíduos avaliados no estudo; assim como houve também a preocupação de manter os níveis inalterados adicionando á amostra fluoreto de sódio que impede a libertação da homocisteína intracelular.

Com estas medidas a determinação não sofreu interferências. [Rasmussen K1996]

- Técnica imunoenzimática, para quantificar a elastase (enzima pancreático) com um marcador específico na avaliação da função pancreática.

Em conclusão revelou-se uma técnica adequada, podendo substituir a técnica invasiva, possibilitando um rastreio para a insuficiência pancreática em adultos, aplicada nas crianças como um teste de triagem para a fibrose cística (Doença causada por uma mutação de um gene que provoca dificuldade respiratória difícil de tratar) [Stein J1996]

- Um aparelho automático, amplificador, para detecção dos ácidos nucleicos (alvo), auxiliando o diagnóstico por PCR, aplicável a uma variedade de doenças infecciosas.

O aparelho da marca *COBAS AMPLICOR*, com um sistema automático termociclador que permite baixar e aumentar a temperatura, uma incubadora, e um fotómetro.

Esta tecnologia aplicável no diagnóstico clínico, com a ajuda de kits comercializados, é uma tecnologia com grande impacto num laboratório clínico, além de poderem diagnosticar várias doenças como a tuberculose, o vírus das hepatites e outras doenças infecciosas, pode ser aplicada no como auxiliar da monitorização terapêutica medicamentosa. [DiDomenico N1996]

1997

- A utilização de anabolizantes em atletas de alta competição, as consequências do uso dos anabolisantes, as estratégias utilizadas para evitar a detecção das drogas quando controlados pelos comités da alta competição. Um programa secreto da Republica Democrática Alemã [Franke WW1997]

- A deficiência metabólica em recém-nascidos, utilizando uma técnica de espectrofotometria de massa [Chace DH1997]

- A troponina no “horário nobre”:

Estudos comprovam que a Troponina T não é específica para doentes cardíacos, pode ser detectada no tecido muscular esquelético humano. [Bodor GS1997]

- O teste pelo método por imunofluorescência para detectar o complexo formado pela troponina I, troponina C, e troponina T e não detectada sob a forma livre.

[Katrukha AG1997]

- A troponina T como um teste mais fiável, por ELISA em comparação com o do CKMB, em doentes com suspeita de enfarto do miocárdio.

[Muller-Bardorff M1997]

- Um novo método de segunda geração para a troponina T utilizando anticorpos monoclonais, um ensaio de elevada sensibilidade e especificidade. [Baum H1997]

- Estudos em doentes hemodialisados sem evidência de doença cardíaca isquémica, determinando o CKMB, a troponina I e a troponina T de segunda geração. Este teste de segunda geração evidenciou poucos falsos positivos [McLaurin MD1997]

- Os testes multiplex, alta tecnologia que permite detectar várias amplificações (várias reacções) numa única amostra, visualizadas pela detecção de sinais de fluorescência, originados em canais ópticos distintos [Fulton RJ1997]

- Teste de uma única etapa, de amplificação, com a utilização de sondas marcadas com fluorescência para diagnosticar anomalias no Factor V, que provoca distúrbios graves na coagulação em indivíduos homozigóticos ou heterozigóticos como tromboembolismos. [Lay MJ1997]

- Técnica de amplificação para o estudo das deleções no ADN associadas a anomalias tais como fibrose cística, utilizando espectrofotometria de massa. [Braun A1997]

1998

- Novamente as troponinas para detectar insuficiências cardíacas, a discrepância dos resultados obtidos com a troponina I devido à heterogeneidade e ao complexo formado; comparação da troponina T e da troponina I em doentes com acidentes isquémicos [Wu AHB1998] [Christenson RH1998]

- Nova técnica para detectar anomalias congénitas em recém-nascidos com défice de aldosterona utilizando sondas marcadas e técnica de southern blotting ^[Krone N1998]
- Novo método para determinação da teofilina por uma técnica electroforetica utilizando anticorpos marcados por fluorescência ^[Chiem NH1998]

1999

- No teste por ELISA, com captura de anti corpos para a pesquisa precoce da síndrome de Down, na matriz urina de grávidas entre as 14 e as 22 semanas de gravidez. ^[Cole LA1999]
- Uma abordagem na sexta conferencia “Standards of Laboratory Practice Serie”. A utilização de bio marcadores para doentes do foro cardiaco no que respeita a doentes com enfarto de miocárdio agudo e outras patologias associadas. Foi determinado que o marcador ideal era o de maior sensibilidade e especificidade. ^[Wu AHB1999]
- Uma nova abordagem para o estudo da pré-eclampsia em amostra de soro materno analisada por PCR em tempo Real com sondas marcadas por fluorescência. ^[Lo YMD1999]
- PCR de Alta Sensibilidade, uma nova técnica de ELISA, automática caracterizada por grande sensibilidade e especificidade que possibilita a previsão do risco cardiovasculares. ^[Rifai N1999]
- Uma nova técnica por HPLC, de elevada sensibilidade e especificidade para reconhecimento de variações nas sequências de DNA no genoma. ^[Jones AC1999]

2000

- A utilização da técnica de *Real Time PCR* (PCR em Tempo Real), utilizando sondas híbridas, nas culturas de exsudados vaginais tornaram mais rápida e eficaz a identificação da infecção por estreptococos do grupo B, agentes de infecção em recém-nascidos causadores de meningites e septicemias.

Esta técnica possibilita um diagnóstico microbiológico mais rápido, tornando possível a aplicação de terapêutica mais rápida e eficaz. ^[Ke D2000]

- As condicionantes num estudo clínico; todos os requisitos que comprovam evidência da exactidão; com a habilidade na escolha dos testes pedidos; a diferenciação entre precisão analítica e a precisão do diagnóstico com a inclusão da história clínica, exame físico e outros aspectos, levam a que a

aplicabilidade da informação obtida para o diagnóstico, prognóstico ou risco da doença, constituam informações relevantes que devem constar em arquivos que possibilitem a comparação noutros estudos. [BrunsDe2000] [Price CP2000]

- Todas as condicionantes no desempenho dos testes, as diferenças intra e inter individuais, os limites superiores e inferiores de referência, a variação biológica individual e outros aspectos, foram tema de pesquisa na MEDLINE (*Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*), base de dados bibliográficos da Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos da América. Todas as pesquisas com o objectivo de diagnosticar lesão hepática aguda e crónica; e monitorização terapêutica. [Dufour DR2000] [Dufour DR2000]

- A preocupação na formação do pessoal e modernização dos equipamentos que possam dar respostas rápidas e eficazes, as vítimas da nova problemática no que se refere a ataque terrorista com armas químicas ou biológicas. [Jortani SA2000]

2001

- Nova metodologia de PCR, por transcrição reversa (RT PCR) com a funcionalidade aperfeiçoada no que respeita à sensibilidade e precisão; a técnica é utilizada para a monitorização do factor VEGF tendo-se concluído a necessidade de testar as amostras de tecido saudável, em simultâneo com as amostras de tecido maligno para comprovar as diferenças de expressão do factor nos dois tipos de amostras, testes que contribuem para o avanço nas investigações nesta área. [Wellmann S2001]

- Nova metodologia para o estudo da artrite reumatóide utilizando uma técnica de ELISA, os anticorpos específicos são lidos com tecnologias diferentes por nefelometria e por imunofluorescência. A fraca sensibilidade do teste não permite que seja usado na triagem da patologia, mas a elevada especificidade em concentrações elevadas pode ser útil na escolha da estratégia terapêutica da artrite reumatóide [Bizzaro N2001]

- Espectrofotometria de massa para o diagnóstico de distúrbios metabólicos em recém-nascidos. [Zytovicz TH2001]

- PCR de Alta Sensibilidade, (um biomarcador inflamatório sistémico, determinada por tecnologia de alta sensibilidade) surge em várias publicações; como indicadores de riscos de doença cardíaca em indivíduos com episódios de doença cardíaca e em indivíduos aparentemente saudáveis, comparada a outros factores de risco.

Estudos comparativos com outros parâmetros analíticos com o colesterol sérico, estudos comparativos de nove metodologias de marcas diferentes para testar a sensibilidade em concentrações de indivíduos saudáveis, todos com o objectivo de prevenir futuros eventos coronários

ou de adequar a terapêutica, foram temas de relevo nos Estados Unidos e na Europa- [Rifai N2001] [Roberts WL2001] [Rifai N2001] [Ockene IS2001]

2002

- Novamente a avaliação do colesterol LDL, como prevenção de doença cardíaca, estudo do desempenho do método e a interferência de substâncias endógenas, uma abordagem baseada em estudos publicados em análises de rotina da avaliação deste parametro analítico. [Nauck M2002]

- “Microarrays” (fragmentos de DNA genómico, cDNA ou oligonucleótidos conhecidos, ligados quimicamente a uma superfície sólida que determinam os níveis de expressão de transcritos em técnicas de biologia molecular) também conhecidos por chips de ADN. Tecnologia com antigénios microbianos de *Toxoplasma gondii*, vírus da rubéola, citomegalovirus, herpes vírus simplex; um método adequado para o diagnóstico serológico de doenças infecciosas.

Uma tecnologia com vantagem no que respeita a custos em relação às técnicas de ELISA, podendo ser totalmente automatizada, contribuindo no diagnóstico de doenças infecciosas e noutras condições patológicas como alergias e doenças auto-imunes. [Mezzasoma L2002]

- São traçadas directrizes no que respeita as análises para o diagnóstico da *Diabetes Mellitus*, a sua correlação com outras patologias, outras abordagens analíticas que podem ser sugestivas desta anomalia metabólica. Uma preocupação de que os resultados sejam verdadeiros para a diabetes, incluindo na própria monitorização dos doentes para os marcadores tumorais, para que os resultados sejam credíveis para os doentes; em resumo traçar directrizes para a utilização destes resultados. [Sacks DB2002]

- Com base na prática da medicina baseada na evidência em oncologia, são implementadas directrizes referentes a bio marcadores tumorais para avaliação sistemática da prática de rotina de doença oncológica e a importância destes não excluírem outros tipos de avaliação. [Sturgeon C2002]

- O tema erro das análises clínicas, as causas efeitos monitorização de todo processo envolvente, acções correctivas apropriadas para minimiza-los, são abordados em vários artigos e são também temas abordados pela “*Commission Europeenne de Normalization*”, (organização com infra-estruturas bem organizadas para a manutenção e criação de normas europeias, que promovem, entre outros aspectos, o bem estar do cidadão) [Bonini P2002]

- Nova abordagem, Proteómica (nova tecnologia aplicada as proteínas em espectrometria de massa de afinidade, com base no fundamento de que as proteínas de interesse são selectivamente adsorvidas após serem tratadas e fixadas em matrizes específicas, bio chip).

Neste estudo, foram empregues bio marcadores da neoplasia mamária e para avaliação foram utilizadas sofisticadas ferramentas de bioinformática. Para a análise complexa, é necessário o reconhecimento de padrões que atribuam mais sensível e mais específica. [Li J2002]

2003

Com base na revisão de estudos publicados, são implementadas normas para os relatórios de diagnóstico com o fim de melhorar a precisão da comunicação. Numa revisão com 25 itens e um diagrama de fluxo que os autores podem usar, para assegurar se todas as informações relevantes estão presentes. [Bossuyt PM2003]

- Um grande surto obriga a uma técnica rápida e eficiente para identificação do agente da epidemia da gripe por coronavírus. A técnica da PCR em Tempo real é utilizada e melhorada para esta identificação específica do coronavírus humano. Um método não invasivo utilizando como matriz as fezes dos doentes infectados, com síndrome (SARS) *severe acute respiratory syndrome*. [Poon LLM2003]

Foram tomadas diretrizes para um laboratório de toxicologia de referência preparar-se para receber amostras; com normas e procedimentos específicos, tecnologia avançada, pessoal especializado capaz de uma resposta rápida e eficaz, no caso de uma intoxicação quer por drogas de abuso ou outras situações de intoxicações. [Wu AHB2003]

2004

- Uma nova temática, a quantificação da homocisteína, a sua aplicabilidade nos distúrbios como o défice vitamínico neonatal (B12), nas patologias cardíacas, nos transtornos psiquiátricos e em outras áreas clínicas.

A sua validação sob o ponto de vista clínico necessita de um trabalho de uma equipa multidisciplinar que possa encontrar resposta adequada da importância deste biomarcador na triagem ou como diagnóstico de distúrbios fisiológicos, são abordados com o objectivo de estabelecer directrizes a nível internacional. [RefsumH2004]

- A metodologia por genotipagem SNPs (*Single Nucleotide Polimorphism*), para detectar polimorfismos, uma técnica simples e pouco dispendiosa que necessita para a sua execução apenas de PCR, um corante para DNA e aparelhagem para fusão e pode ficar completada em menos de 2 min após a conclusão da PCR [Liew M2004]

. Esta tecnologia com aplicações em várias áreas como o mapeamento genético, detecção de doenças genéticas, polimorfismos e outras aplicações será de grande utilidade futura.

- A determinação de uma hormona CNH (hormona natriurética) segregada pelas células do músculo cardíaco, reguladoras da tensão arterial.

Neste estudo houve controvérsia da relevância clínica e fisiopatológica dos valores obtidos, a possibilidade da substituição dos bio marcadores de risco cardiovascular em indivíduos com doença, a necessidade de definir, a sua avaliação de acordo com as características fisiológicas do indivíduo.

Embora os valores aumentados pertencessem a indivíduos com suspeita de doença, sugerindo diagnóstico correto, mas não havia possibilidades de comprovar que as baixas concentrações pertencessem a indivíduos sem doença.

Concluindo-se que este teste necessita de uma validação mais credível, para ser aplicado no diagnóstico ou prognóstico da doença cardíaca.^[Clerico A 2004]

- A determinação de uma hormona BNP (peptídeo cerebral natriurético do tipo-B) segregada pelas células do músculo cardíaco, reguladoras da tensão arterial.

Os resultados deste estudo destacam a diversidade de ensaios de peptídios existentes no mercado, sendo impossível comparar os estudos de ensaios diferentes. Por estas e outras razões, verificou-se que o estudo necessitava de ser reavaliado.^[Hammerer A 2004]

5. Fatores Intervenientes num Teste Clínico

5.1. As Fases de um Teste

O diagnóstico laboratorial é um campo de rápido crescimento, que fornece uma enorme contribuição para a tomada de decisão clínica, no que se refere à prevenção, diagnóstico e a monitorização terapêutica.

Calcula-se que 70% dos diagnósticos são feitos com base nos testes laboratoriais. [Guimarães A 2011]

O processo envolve três etapas que se complementam.

Todo o procedimento de um teste

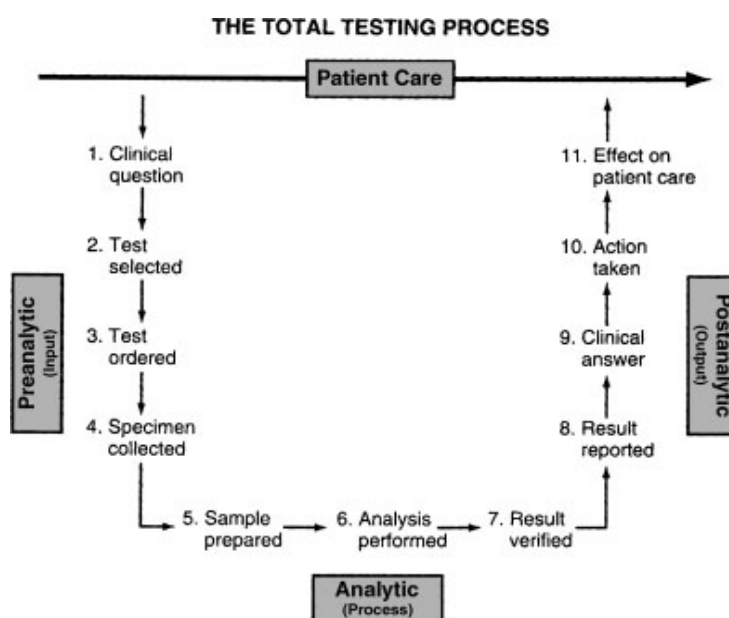


Fig.1. Laboratory testing begins and ends with patient care. Any part of the process may contribute to laboratory error

Quadro adaptado de

HOLLENSSEAD S "Errors in Pathology and Laboratory Medicine: Consequences and Prevention" *Journal of Surgical Oncology* 2004; 88:161–181

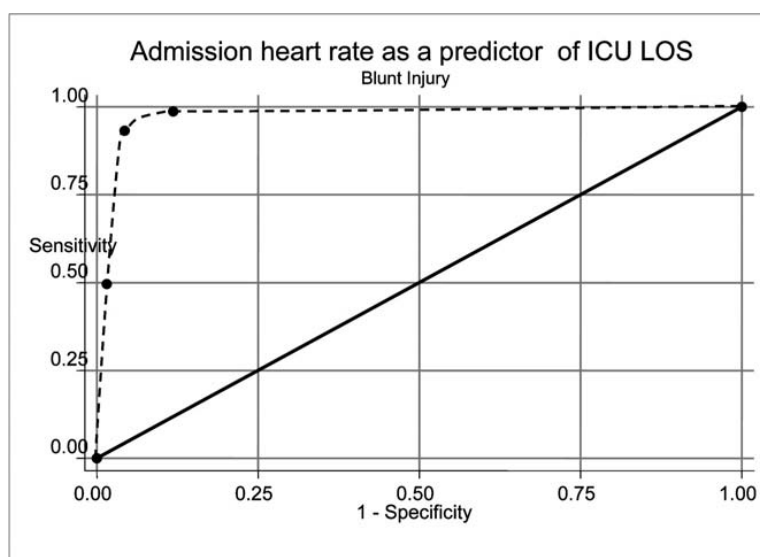
5.2. Fase Analítica

Falaremos brevemente na fase analítica, visto que esta é gerida por normas e regulamentos e é considerada como uma das mais baixas em percentagem de erro analítico.

5.2.1. A Curva ROC

(Receiver Operating Characteristic)

Uma ferramenta da qualidade que mede o desempenho do teste de diagnóstico



A curva ROC com uma excelente sensibilidade e especificidade. Mesmo quando é elevada sensibilidade, a especificidade continua a ser elevada, portanto, quando 1-especificidade é próxima de zero, a sensibilidade é de perto de 100% para o teste. Isso gera uma elevada área sob a curva que indica que o teste é sensível e específico (linha a tracejado). A linha contínua representa um teste de sensibilidade e especificidade baixa.

Adaptado de:

RamN et al Determining and Interpreting the Accuracy of a Test *CURRENT SURGERY*• Volume 63/ Number 3 • May/June 2006

Comprova a sensibilidade de um ensaio, a capacidade do teste para identificar um indivíduo, supostamente doente, comprovando-se a existência da doença e a especificidade de um ensaio, a capacidade do teste de identificar correctamente um paciente, como não tendo doença [RamN2006]

5.2.2. As Normas ISO

ISO 17125 - especifica todos os requisitos gerais que atribuem competência aos laboratórios relativamente a ensaios e calibrações.

ISO 15189 - estabelece orientações para a gestão da qualidade nos laboratórios de análises clínica, entre outros aspetos, nas três fases do processo, que inclui a fase analítica. A utilização do controlo de qualidade interno (CQI), permite-nos especificações que confirmam o desempenho e a qualidade de um teste.

A utilização do controlo estatístico relacionado com a qualidade requerida para um teste, em função da precisão e da possibilidade de verificação do enviesamento do resultado e o grau de incerteza da medição. [Llopis M.2012]

James Westgard

“...ISO 15189 faz com que a incerteza de medição seja determinada quando necessário e possível!... os laboratórios precisam considerar o efeito total de todas as fontes de variação...” [Westgard J. 2010]

5.3. A Fase Pré Analítica

Estudos comprovam que a fase analítica se encontra no seu ponto máximo da eficiência. Poder-se-á dizer que também se encontra no ponto máximo da eficácia?

Gerida por um conjunto de normas e procedimentos que confirmam a qualidade dos testes, existem contrassensos, uma vez que os resultados obtidos, muitas vezes não confirmam os valores esperados pelos clínicos.

Vários estudos têm sido desenvolvidos para verificar a causa de elevada percentagem de erro desta fase.

5.3.1. A medicina baseada na evidência sendo o laboratório o apoio para a decisão. Um artigo de Christopher P. Price, 2000

A medicina baseada na evidência refere uma atenção especial ao laboratório, sendo este o principal instrumento que pode comprovar a evidência através dos resultados dos testes. Estes apresentam determinados aspectos que necessitam de ser melhorados para eliminar os desvios observados nos resultados.

É também reconhecida a necessidade de programas de formação aos profissionais de saúde para minimizar os erros nas tomadas de decisão clínica.

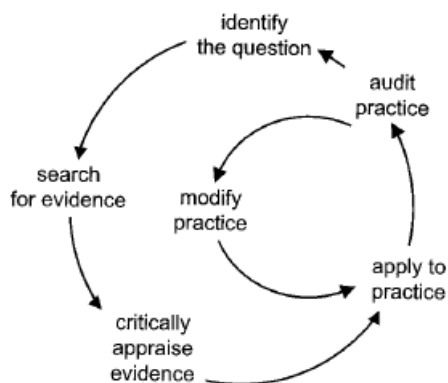


Fig. 1. The elements of evidence-based laboratory medicine.

Adaptado de:

Price Ch. Evidence-based Laboratory Medicine: Supporting Decision-Making Clinical Chemistry 46:8 1041–1050 (2000)

A figura representa as acções contínuas no laboratório, para a qualidade na prática da medicina laboratorial baseada na evidência.

Aplicar a prática (apply to practice), auditar a prática (audit practice) e modificar a prática se necessário, voltar a auditar, identificar a causa observada (identify the question), procurar a evidência (search for evidence), avaliar criticamente as evidências (critically appraise evidence), este ciclo deve-se manter contínuo para evitar desvios no processo analítico, como por exemplo uma revisão sistemática nos testes deve ser efectuada continuamente.



Fig. 2. Evidence of performance designed to facilitate decision-making.

Adaptado de:

Price Ch. Evidence-based Laboratory Medicine: Supporting Decision-Making Clinical Chemistry 46:8 1041–1050 (2000)

A figura representa as provas de desempenho projectadas para facilitar as tomadas de decisão, que estão reunidas em seis níveis representativos das hierarquia das evidências, sendo do nível inferior para o superior os seguintes itens:

Desempenho técnico (technical performance); desempenho do diagnóstico (diagnostic performance); o terceiro item impacto clínico (clinical impact) reúne três aspectos, diagnóstico (diagnostic), terapêutico (therapeutic), resultado na saúde (health outcome); o quarto item impacto organizacional (organization impact); o quinto item relação custo-eficácia (cost effectiveness); e o sexto e último nível decisões (decisions).

Todos os aspectos citados são fundamentais para as tomadas de decisões.

O autor refere que a base de qualquer evidência é o desempenho técnico, e pode ter uma influência importante sobre o desempenho do diagnóstico. Além de precisão, e do alcance do rigor analítico, há a considerar outros factores que interferem e limitam os valores dos testes, como variação biológica. Para uma boa gestão de todo o processo deve existir uma auditoria regular que reforça o compromisso da manutenção das boas praticas-

A auditoria, poderá verificar se uma nova tecnologia introduzida tem cumprido os objectivos pretendidos e se os resultados encontrados corroboram com os resultados originais.

O resultado da auditoria pode identificar a necessidade de modificar a prática ou pode até conduzir a uma nova questão a pesquisar. As mesmas auditorias têm conduzido a verificações que comprovam o uso inadequado dos recursos do laboratório, assim como têm demonstrado necessidade clínicas não satisfeitas.

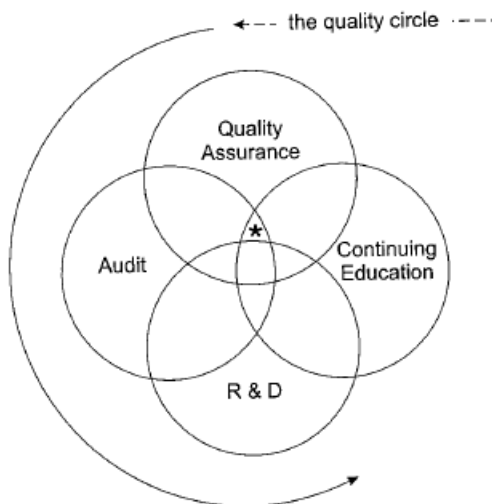


Fig. 3. Evidence-based laboratory medicine at the core (*) of continuous quality improvement.
R & D, research and development.

Adaptado de:

Price Ch. Evidence-based Laboratory Medicine: Supporting Decision-Making Clinical Chemistry 46:8 1041–1050 (2000)

A figura representa o ciclo da melhoria contínua da qualidade, estando representados quatro ciclos que reunidos formam um ponto (demonstrado pelo asterisco) (*), representativo do ponto máximo da qualidade onde os quatro ciclos se interceptam, sendo os ciclos representativos de Educação Contínua (Continuing Education), Garantia da Qualidade (Quality Assurance), Auditar (Audit), Pesquisa e Desenvolvimento (Research and Development). Quando estes quatro aspectos reúnem toda a qualidade necessária, o somatório desta reverte na qualidade de todo o processo.

5.3.2. Um artigo de 2002 utiliza como ferramenta de pesquisa a MEDLINE

Neste artigo de revisão focado nos problemas ocorridos, que representaram erros do laboratório, uma questão dificultada pela escassez de literatura, realça a designação de erro inerente ao laboratório, na identificação das amostras, a definição de erro aceitável e a possibilidade de avaliar as consequências destes.

Outra das questões levantadas é a escolha inadequada do teste e a maioria dos erros atribuídos á inadequada interpretação destes e a utilização dos resultados de um modo inapropriado.

A utilização inapropriada dos testes moleculares para avaliar a susceptibilidade para a doença.

Deste artigo fez parte uma pesquisa utilizando o banco de dados da MEDLINE, cruzando vários aspectos inerentes ao laboratório, concluiu-se que a maior percentagem de erros existentes correspondiam á fase pré-analítica e pós-analítica.

Tendo sido concluída, entre outros aspectos, a importância de uma definição dos erros atribuídos ao laboratório, com uma monitorização de todo o processo relativo às fases do teste. Um aspecto referido foi a rotulagem das amostras, por profissionais não pertencentes ao laboratório.

Conforme uma declaração de David Blumenthal “as maiores reduções na quantidade de erros de laboratório, resultam provavelmente da cooperação interdepartamental em busca da melhoria da qualidade na colheita de amostras e na disseminação de informações.” [Bonini P 2002]

5.3.3. Fatores interferentes

Vários factores podem comprometer os resultados do teste. Por vezes difíceis de eliminar por ocorrerem fora do laboratório, em situações que não dependem do pessoal especializado do laboratório.

A falta ou erro de identificação da amostra, a recolha incorrecta da amostra no que se refere ao tubo utilizado, erro na preparação do doente, manipulação, armazenamento e transporte da amostra, assim como interferências verificadas, como a hemólise a lipémia ou a amostra coagulada, todas e outras condicionantes podem comprometer ou inviabilizar um resultado.

5.3.4. As interferências na fase pré-analítica de amostras da medicina desportiva. Um estudo realizado em 2003

As amostras provenientes da medicina desportiva têm determinadas particularidades, por pertencerem a indivíduos supostamente saudáveis. A importância na determinação dos analitos e as interferências pré-analíticas que podem ocasionar falsos resultados, na área da medicina desportiva, assume uma importância diferente, interferindo no campo profissional.

Interferências dos anticoagulantes, tempo de estabilização, proporções incorrectas, tempo de armazenagem e outras condicionantes das amostras, interferem nos resultados, nas análises hematológicas. Um exemplo da avaliação de células sanguíneas e das partículas de hemoglobina são determinações importantes em atletas para estudar o metabolismo do ferro no transporte de oxigénio, possíveis infecções e outras doenças.

Hematócrito e (ou) hemoglobina são parâmetros escolhidos por algumas federações desportivas na pesquisa indirecta do *doping*, com a incorporação de elementos sanguíneos como as hemácias ou mesmo a administração de eritropoietina (para estímulo de produção de hemácias).

As avaliações na área da bioquímica, da imunologia, endocrinologia também são afectadas com má qualidade da fase pré-analítica.

Devido à sua fragilidade, algumas moléculas podem ser fragmentadas *in vitro* pela acção de várias enzimas, com a utilização de alguns anticoagulantes.

No campo da biologia molecular, a interferência da heparina nos ácidos nucleicos.

A avaliação de determinados parâmetros urinários, para controlo da homeostase hidroelectrolítica, funcionalidade renal e controlos *antidoping*, pode ser comprometida devido a falhas na preservação do produto na fase pré-analítica [Banfi G 2003]

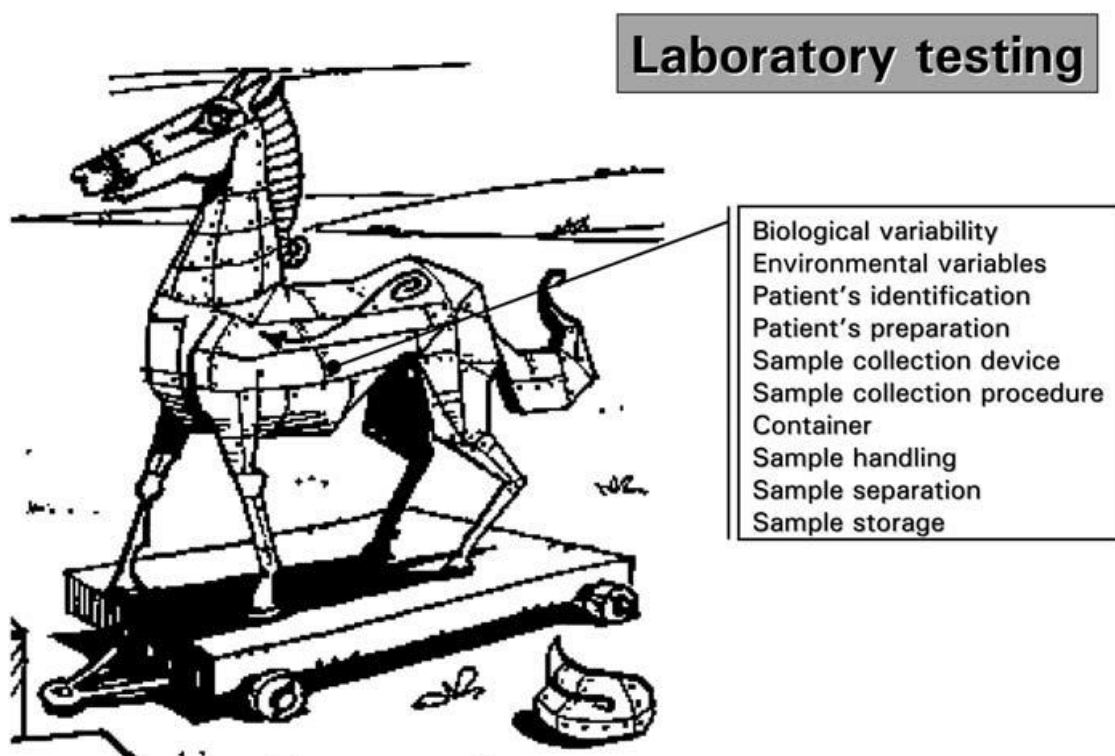
5.3.5. Os erros ocorridos na fase pré-analítica, um artigo de 2006

Segundo Lippi, têm-se verificado notáveis avanços nas tecnologias dos instrumentos automáticos e nas ciências da computação, que têm simplificado muitos aspectos e tarefas anteriormente tediosas no laboratório de diagnósticos, desenvolvendo um maior volume de trabalho na rotina do laboratório e melhorando significativamente a qualidade dos resultados de testes do laboratório.

A implementação dos padrões analíticos de alta qualidade, deixam de ser considerados factores que influenciam a confiabilidade e a utilização do teste no diagnóstico clínico. Os erros analíticos já não são considerados a principal causa de erro no teste do diagnóstico.

Portanto, adicionar fontes de variação em todo o procedimento do teste laboratorial deve tornar-se o foco para melhorias de qualidade. Os erros que ocorrem nas fases extra analíticas ainda são fonte de preocupação predominante.

A falta de procedimentos padronizados para colheita das amostras, incluindo a preparação do utente para colheita, manipulação e armazenamento, são responsáveis por até 93% dos erros actualmente encontrados, dentro de todo o processo de diagnóstico.



Adaptado do artigo de revisão

Lippi G. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing *Clin Chem Lab Med* 2006; 44(4):358–365

Existe a profunda consciência de que a completa eliminação de erros do teste de laboratório é irreal, especialmente os relativos à fase extra analítica que são mais difíceis de controlar; destaca-se a importância de boas práticas de laboratório e de conformidades com as novas normas de acreditação, o abranger da adopção de estratégias adequadas para prevenção, o controlo e redução, incluindo redesenho dos processos, o uso de especificações extra analíticas e uma melhor comunicação entre os cuidadores ^[Lippi G 2006]






Lippi conclui que segundo Marcus Tullius Cicero

“...errar é humano, mas sustentar o erro é apenas um acto idiota”.

5.3.6. A qualidade da amostra, um estudo de 2007

O estudo refere-se aos erros da amostra que traduzem interferências nos resultados:

“Recommendations for detection and management of unsuitable samples in clinical laboratories”

Type of specimen	Representation	Definition
Normal specimen		Sample without known interfering substances.
Hemolytic specimen		Visible hemolysis following centrifugation is defined as the presence of free hemoglobin in serum or plasma >300 mg/L (18.8 mmol/L).
Lipemic specimen		Visible lipemia is defined as turbidity due to elevated concentrations of lipids, measurable at 660/700 nm (48) and usually corresponding to a triglycerides concentration >1000 mg/dL (11.3 mmol/L) in whole blood specimens or >300 mg/dL (>3.4 mmol/L) in centrifuged specimens.
Icteric specimen		The definition of icteric specimen by sole visual inspection is unreliable. It is recommended to use photometric detection at 450 and 575 nm (98).
Clotted specimen		Clotted specimens are defined as those refereed for hematological or coagulation testing and presenting with visible micro or macro clots. Additional tools to detect clotted specimens are instrumental flags or cytograms suggestive for platelets clumps, low platelets count or clinically inexplicable bias in the platelets count when compared to previous specimens from the same patient.

Adaptado de

Giuseppe Lippi et al Recommendations for detection and management of unsuitable samples in clinical laboratories Clin Chem Lab Med 2007;45(6):728–736

Na figura estão representadas cinco amostras, com características diferentes:

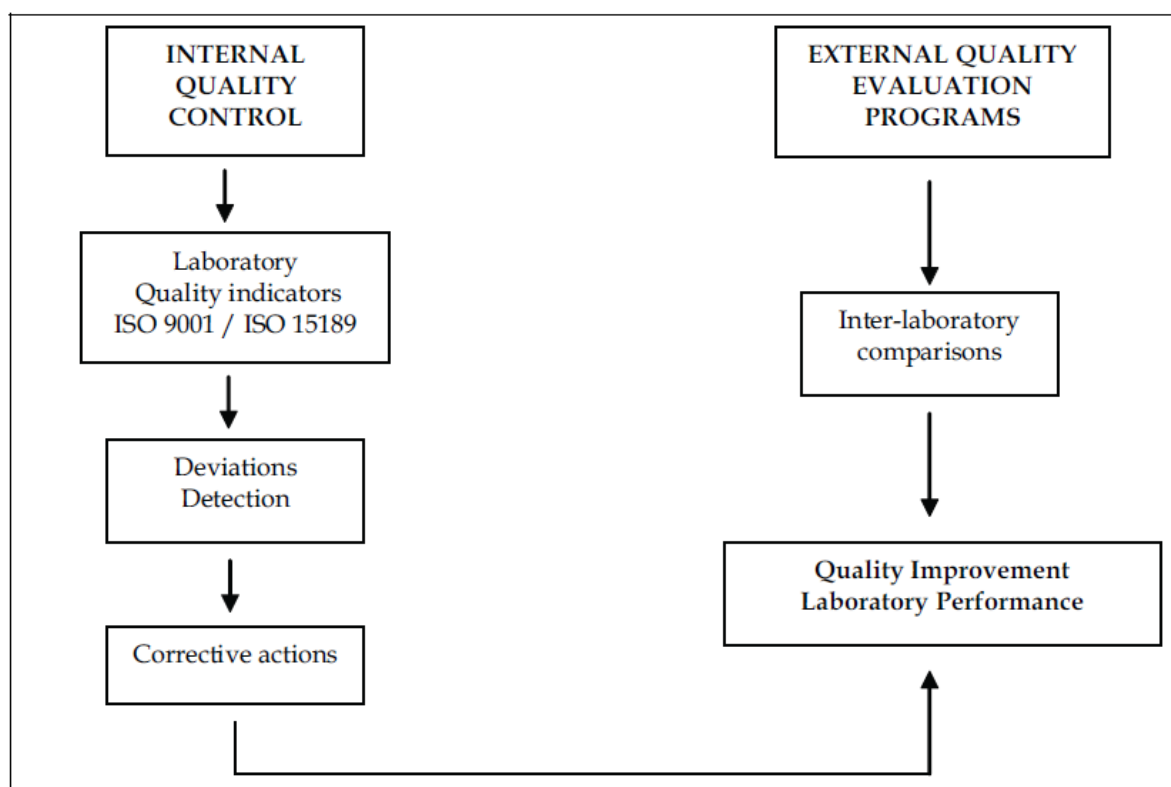
- A primeira é uma amostra normal sem interferências visíveis.
- A segunda amostra com hemólise visível, determinada pela hemoglobina livre visível no soro ou plasma, após centrifugação.

- c) A terceira amostra apresenta-se lipémica, definida pela turvação, devido a concentrações elevadas de lípidos determinada a 66/700nm, resultando normalmente de altas concentrações de triglicerídeos >1000 ng/dL (11.3 mmol/L) em amostras de sangue total ou >300 mg/dL ou (>3,4 mmol/L) em amostras centrifugadas.
- d) A quarta, uma amostra icterica que não deve ser avaliada a olho nu, recomenda-se utilizar uma detecção fotométrica a 450 e 575 nm.
- e) A quinta, uma amostra coagulada, com micro ou macro coágulos, originados por pequenos aglomerados plaquetários, que determinam falsos baixos resultados, na contagem de plaquetas.

Todas as condicionantes determinam erros analíticos, dos quais resultam falsos resultados.

5.3.7. A Gestão da Garantia da Qualidade no Processo Pré-analítico Um artigo de 2012

Este processo deve ser orientado de acordo com o fluxograma abaixo indicado.



Interpretação do fluxograma (adaptado de um artigo espanhol) ^[Llopis M.2012]

O Controlo da Qualidade Interno (Internal Quality Control) através dos Indicadores de Qualidade do Laboratório (Laboratory Quality Indicators) normas ISO 9001 e a ISO 15189 detectam desvios

(Deviations Detection) que através de acções correctivas (Corrective actions) determinam a Melhoria da Qualidade no Desempenho do Laboratório (Quality Improvement Laboratory Performance).

Programas de Avaliação Externos da Qualidade (External Quality Evaluation Programs) através de comparações interlaboratoriais (Interlaboratory comparisons) em simultâneo contribuem para a Melhoria da Qualidade no Desempenho do Laboratório.

Todo o processo desenvolvido num laboratório de análises clínicas, deve ser gerido estabelecendo indicadores de qualidade, incluindo o processo pré-analítico, com o fim de minimizar os erros do laboratório e melhorar a segurança do doente.

Um programa informático introduzido neste processo, pode minimizar determinados aspectos tais como: repetição de testes (30% por mês, segundo o artigo); pedidos de vários testes equivalentes para detecção de uma determinada doença; adição de novos testes e a exclusão dos obsoletos substituídos por outros mais eficazes; a divulgação aos clínicos desses novos testes; a informação inerente ao doente como sexo, idade, etnia, condições fisiológicas como gravidez, menopausa; hábitos alimentares, e tóxicos, medicação e suspeita do diagnóstico (condições que evitariam repetições desnecessárias, em situações de testes com resultados incongruentes, impossíveis de validar por falta de informação clínica).

Por parte do laboratório, o compromisso do fornecimento de informações referentes a interferências das variações biológicas, que podem comprometer a validação dos testes: Os clínicos devem entender o conceito da variação biológica interindividual (variações entre vários indivíduos à volta de um valor considerado homeostático “*Set point*” e a variação intra-individual (oscilações de resultados em torno de um ponto de ajuste homeostático).

A compreensão destas variações é muito importante na escolha do teste, porque no caso de haver dois testes disponíveis, deverá ser escolhido o de menor variação biológica.

Por sua vez, o clínico deve saber interpretar os resultados, para o *follow-up* do doente em relação ao equilíbrio homeostático de cada doente.

A introdução dos programas informáticos facilitou aos clínicos os pedidos, mas por outro lado aumentou os pedidos de análises. Cabe ao laboratório intervir e passar informações detalhadas do objectivo de cada teste, de modo a facilitar ao clínico a escolha adequada direccionada para determinada suspeita de diagnóstico. ^[Llopis M. 2012]

5.3.8. Avaliação dos erros pré-analíticos, um estudo de 2012

Foi realizado um estudo prospectivo, num período de 3 meses a partir de 1 Dezembro de 2009 a 28 de Fevereiro de 2010 em Química Clínica.

Através de um rastreio de todas as amostras de sangue venoso de doentes internados recebidas das enfermarias, colhidas pelos enfermeiros e estagiários, para monitorização da frequência dos erros pré-analíticos.

O objectivo do estudo foram os seguintes:

1. Detectar a percentagem de erros pré-analíticos no laboratório de bioquímica.
2. Classificar estes testes pré-analíticos.
3. Definir medidas correctivas a serem tomadas.

Todos os tipos de erros pré-analíticos foram documentados por técnicos assistentes e mais tarde, verificados pelo laboratório encarregado da tomada da decisão final.

Foram registadas variáveis pré-analíticas.

Percentagem total dos erros pré-analíticos e sua distribuição

Mês	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Total
	2009	2010	2010	
Total de erros pré- analíticos/dia	71	55	51	177
Média de amostras venosas/dia	139	126	131	396.0
Percentagem de erros pré-analíticos	51.1%	43.7%	38.9%	44.7%

Quadro adaptado de

S. Ashakiran et al A study of pre-analytical variables in clinical biochemistry laboratory

A análise dos erros, foi feita pelo cálculo da percentagem do total e de cada uma das categorias:

Solicitação indevida, identificação incorrecta / erro na rotulagem, momento da colheita da amostra, volume da amostra insuficiente, hemólise *in vitro*, colheita em tubo inadequado, manuseamento e transporte.

A análise destes erros foi feita por meio do cálculo da percentagem do total e de cada categoria.

Resultados

Número total de amostras recebidas em 3 meses era de 11.883, das quais 5334 apresentaram variações. A Tabela 1 mostra o total dos erros da fase pré-analítica e sua distribuição percentual, num período de 3 meses. Os erros pré-analíticos aconteceram em vários níveis de amostragem, ou seja, ao nível de identificação do paciente, colheita de amostras e transporte, como mostra a tabela

Distribuição de erros pré-analíticos em vários níveis da colheita de amostras

Mês	Dezembro 2009 (%)	Janeiro 2010(%)	Fevereiro 2010(%)	Total (%)
Erros que ocorrem ao nível de identificação do paciente				
Pedidos incorrectos	20(28,2)	15(27,3)	16(31,4)	51(28,8)
Identificação incorrecta/ rotulagem inadequada	2 (2,8)	2 (3,6)	1 (2,0)	5 (2,8)
Erros que ocorrem ao nível da recolha de amostras				
Tempo inadequado de amostra	15 (21,1)	10(18,2)	12(23,5)	37(20,9)
Amostra insuficiente	5(7,0)	4(7,3)	4(7,8)	13(7,3)
Tubo de colheita inadequado	11(15,5)	8(14,5)	8(15,7)	27(15,3)
Os erros que ocorrem durante o transporte da amostra				
Atraso no manuseamento e transporte das amostras	3 (4,2)	4 (7,3)	3 (5,9)	10 (5,6)
Hemólise <i>in vitro</i>	15(21,1)	12(21,8)	7(13,7)	34(19,2)
Total de erros pré-analíticos	71 (100)	55 (100)	51 (100)	177(100)

Quadro adaptado de
S. Ashakiran et al A study of pre-analytical variables in clinical biochemistry laboratory

5.3.9. Um novo estudo de Plebani 2011

Novo conceito para a fase que antecede a fase pré-analítica e os erros atribuídos nesta fase. Define esta fase como a fase pré-pré-analítica, a fase fora das paredes do laboratório, fase cujo processo não está no domínio do laboratório. Embora nesta fase se verifique a maior ocorrência de erro, só uma percentagem minina resulta em dano para o doente, devido a estratégias implementadas pelo laboratório para defesa desses erros.

Uma das formas de controlar estes erros seria com técnicas *HAZOP (HAZARD AND OPERABILITY STUDIES)* (Técnicas para implementar a qualidade de um processo identificando os problemas com a ajuda de equipas qualificadas para identificar os desvios e as suas causas.

Refere ainda que todos os procedimentos desta fase devem ser registados de acordo com as directrizes da ISO 15189 de 2007. ^[Plebani M 2011]

5.3.10. Um artigo sobre as melhorias da qualidade da fase pré-analítica 2013 Lippi G.

Um estudo envolvendo vários países da Europa além da China, Austrália, Brasil e Reino Unido, em que o assunto principal foram os erros ocorridos na fase pré-analítica

Neste estudo com base na revisão de estudos anteriores, o tema abordado foi “erros de laboratório e a segurança do doente”. Foram abordados todos os aspectos envolventes na fase pré-analítica susceptíveis de causas de erro, uma vez que a fase analítica está actualmente avaliada em 4,6 Sigma “um erro muito menor do que o erro de diagnóstico em radiologia 3,24 Sigma”.

As variáveis fisiológicas controláveis a ter em conta que podem determinar desvios como a dieta, o exercício físico, o ritmo circadiano, a postura do doente (prolongado repouso no leito) e outros factores como os estilos de vida, viagens, todas as variáveis controláveis passíveis de interferir nos resultados laboratoriais.

Os aspectos relevantes para a melhoria da qualidade foram:

- A prática da flebotomia especificamente para colheita de gasometrias, amostras de sangue pediátrico, lipémia, interferências dos tubos na colheita de sangue, requisitos pré-analíticos da colheita da urina, hemostasia, requisitos das colheitas para análises de biologia molecular, interferências das colheitas em testes de plaquetas e indicadores para as colheitas de sangue em segurança.
- Os aspectos da colheita envolvendo o profissional responsável são: a segurança do doente, uma identificação correcta da amostra, utilização do equipamento correcto para a colheita, detalhes como a punção em doentes mastectomizados.

Para além destes, a necessidade da actualização de conhecimentos sempre que o equipamento da colheita sofrer alterações, nomeadamente, o garroteamento prolongado e a pressão no punho.

Os pontos citados em maior pormenor foram:

- Na colheita arterial foram considerados os aspectos susceptíveis de provocar hemólise. Foi também empregue uma acção correctiva para a verificação da percentagem do erro de hemólise, com a centrifugação das amostras após determinação da análise.
- As amostras de sangue pediátrico, devido à particular dificuldade da colheita, a necessidade de utilização de menor quantidade de amostra para evitar o risco da anemia iatrogénica e a exigência de pessoal qualificado e treinado para a sua recolha.
- A substituição do vidro pelo plástico nos tubos para as análises de bioquímica, com a adição de componentes apresentaram melhorias, como a redução do tempo de centrifugação, rápida retracção do coágulo, possibilidade de utilização dos tubos primários na execução do teste, o aumento da estabilidade da amostra além da adequação do material que permite a eliminação por incineração, verificam-se no entanto algumas interferências nos resultados destas análises. Outra condicionante destas melhorias, como a adição do gel separador devido à sua afinidade com compostos hidrofóbicos, pode provocar resultados incorrectos nas determinações de algumas drogas e ainda

devido à sua instabilidade, em condições extremas de temperatura, produz uma película oleosa no soro que pode levar à obstrução das sondas dos aparelhos.

Concluindo-se que a qualidade do tubo da colheita deverá ter os mesmos valores que qualquer dispositivo médico.

- A lipémia, outro factor abordado devido às suas interferências na leitura, pode originar falsos valores nas medições por fotometria, devido ao espalhamento da luz e absorção. O grau de interferência está relacionado com o tamanho da lipoproteína e o número de partículas.

Estas interferências podem ter razões fisiopatológicas mas podem também ser causadas por erros pré-analíticos controláveis, como a colheita ter sido efectuada após uma refeição ou após uma infusão intravenosa de emulsões de triglicéridos, como no caso da nutrição parenteral.

- A fase pré-analítica tem algumas questões que devem ser esclarecidas na aplicação dos testes de biologia molecular, assim como as análises em proteómica cada vez mais utilizadas para diagnósticos, devido ao elevado nível de qualidade. A utilização do plasma em vez do soro tem sido a melhor opção a ser utilizada, mas em algumas avaliações apresenta poucas diferenças, como no caso da determinação da concentração de ADN fetal no plasma materno, que apresenta a mesma concentração do avaliado no soro.

Existem actualmente tubos específicos (gene PAXTM) que permitem a estabilidade do ADN a longo prazo.

Devido à especificidade destas análises, há ainda necessidade de desenvolver estudos para uma padronização do processo.

- Os testes dos factores de coagulação podem ser afectados por erros pré-analíticos. Os valores das plaquetas podem sofrer alterações com a hemólise, embora alguns analisadores automáticos já possam determinar a qualidade da amostra no que se refere à hemólise, icterícia e lipemia, com uma chamada de atenção nos resultados.

- Embora a análise do sedimento da urina tenha sido considerado como um padrão de ouro por citometria de fluxo, esta colheita que depende quase exclusivamente do doente, apresenta vários erros pré-analíticos devido à pouca importância que o doente lhe atribui. Há uma enorme necessidade de passar informações ao doente, mais detalhada, dos requisitos da colheita, sugerindo até informações com ilustrações. Devido às contaminações que possam surgir, às condicionantes do doente algaliado e à proliferação bacteriana, a escolha da urina recolhida, o seu armazenamento e transporte para que as condições sejam melhoradas de forma a reduzir os erros pré-analíticos.

Estes e outros aspectos, que foram abordados neste artigo com o fim de otimizar a gestão da fase pré-analítica.

6. Metodologia

O estudo foi realizado com grupos da área da saúde, na área Metropolitana de Lisboa. Foi feita uma investigação do tipo quantitativa com a utilização de um questionário constituído por sete perguntas. Este questionário tinha como objectivo perceber a realidade local, no que respeita ao tema desta tese “O impacto da fase pré-analítica nos resultados”.

6.1. Amostra

Foram inquiridos 58 elementos, pertencentes a categorias profissionais diferentes na área da saúde, clínicos de diferentes especialidades (6), enfermeiros (14), técnicos de diagnóstico e terapêutica de outras áreas profissionais (10), alunos de medicina (27) e alunos de diagnóstico e terapêutica (1) (Figura 1).

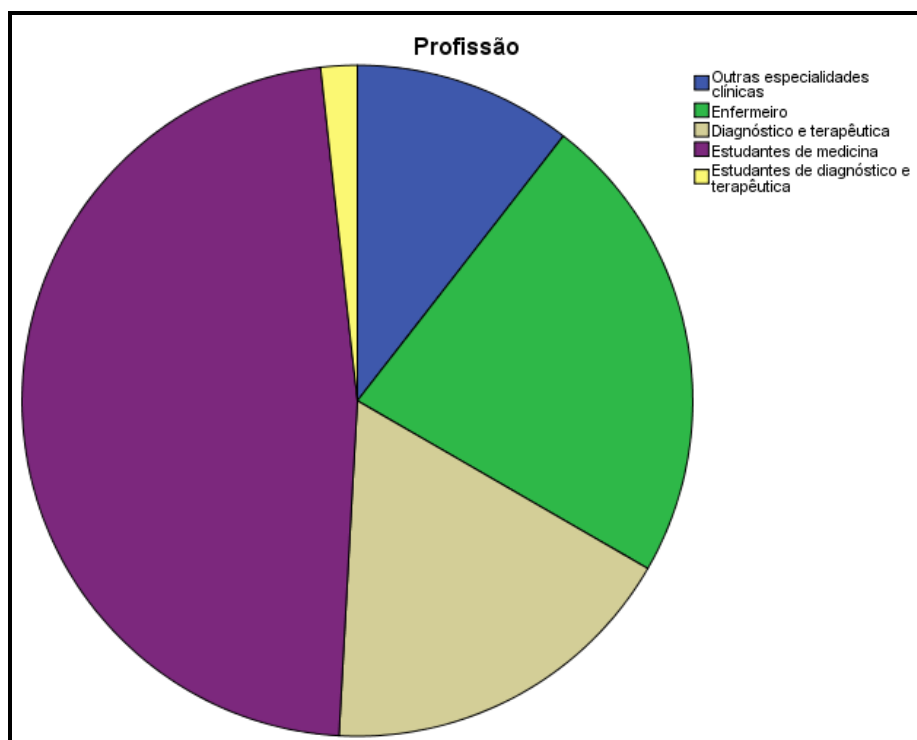


Figura 1: Média das categorias profissionais.

6.2. Apresentação dos Resultados

O programa utilizado para a análise de dados foi o SPSS – *Statistical Package for Social Sciences* (v.20).

Relativamente à pergunta: “O processo que decorre entre a colheita da amostra até a obtenção do resultado passa por três fases: a pré-analítica, a analítica e a pós-analítica. Da fase pré-analítica compreende todo processo até a obtenção da amostra, da fase analítica o processamento analítico (a execução da técnica escolhida) e a fase pós-analítica a validação do resultado. Qual destas fases acha que é a mais importante para a qualidade do resultado laboratorial?”. Podemos observar na figura 2 que as fases consideradas como as de maior importância na colheita da amostra para a qualidade do resultado foram a pré-analítica e a analítica. Sendo que temos uma pequena percentagem de elementos da amostra que consideram que todas as fases são cruciais e uma percentagem significativa atribui grande importância à fase pós analítica.

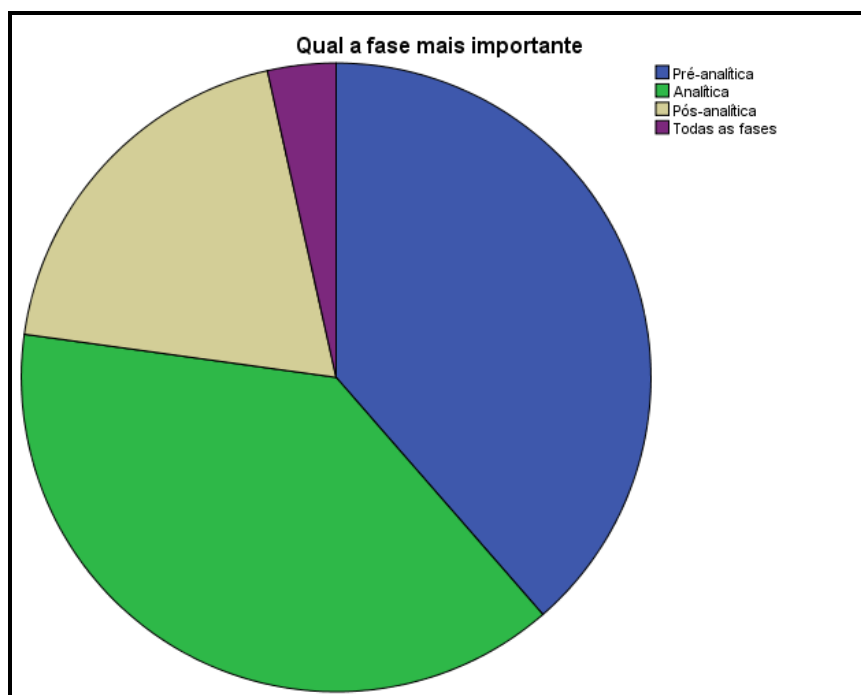


Figura 2: Qual a fase mais importante para o resultado laboratorial.

Relativamente, à correlação entre as profissões dos inquiridos e as fases no procedimento da amostra, podemos realçar que a grande maioria revela que a fase mais importante é a fase pré-analítica, destacando-se os estudantes de medicina (N=12). No entanto, podemos observar que os técnicos de diagnóstico e terapêutica de outras áreas profissionais (N=7) consideram a fase analítica como a mais importante.

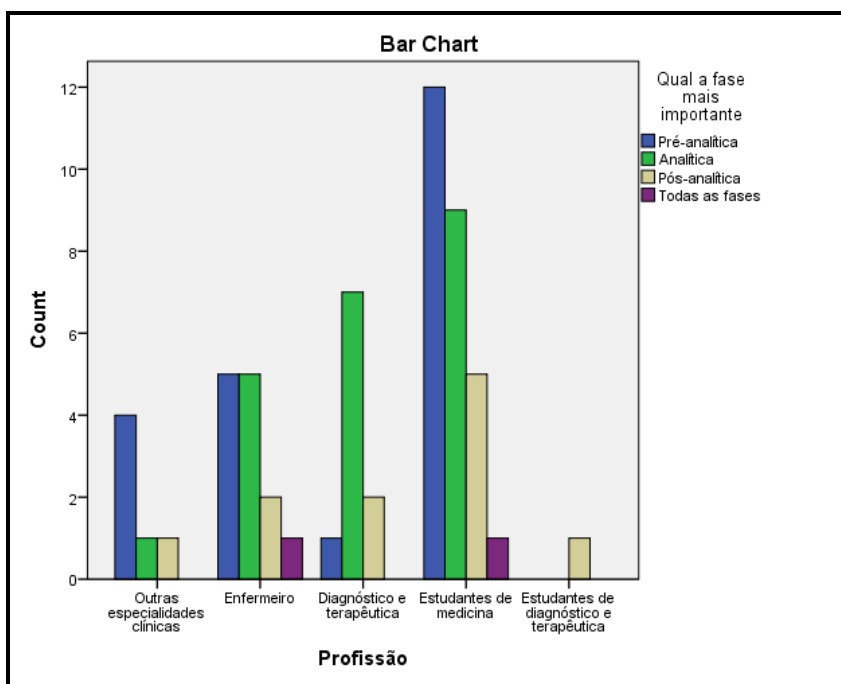


Figura 3: Correlação entre as profissões e as fases no procedimento da amostra.

Na pergunta: “Qual a importância que atribui às recomendações inerentes ao processo que antecede a recolha da amostra, designadamente às instruções de como se vai proceder a colheita?”. Relacionada com as fases do processamento da amostra, observa-se que nas fases pré-analítica e analítica, as instruções de colheita têm muita importância.

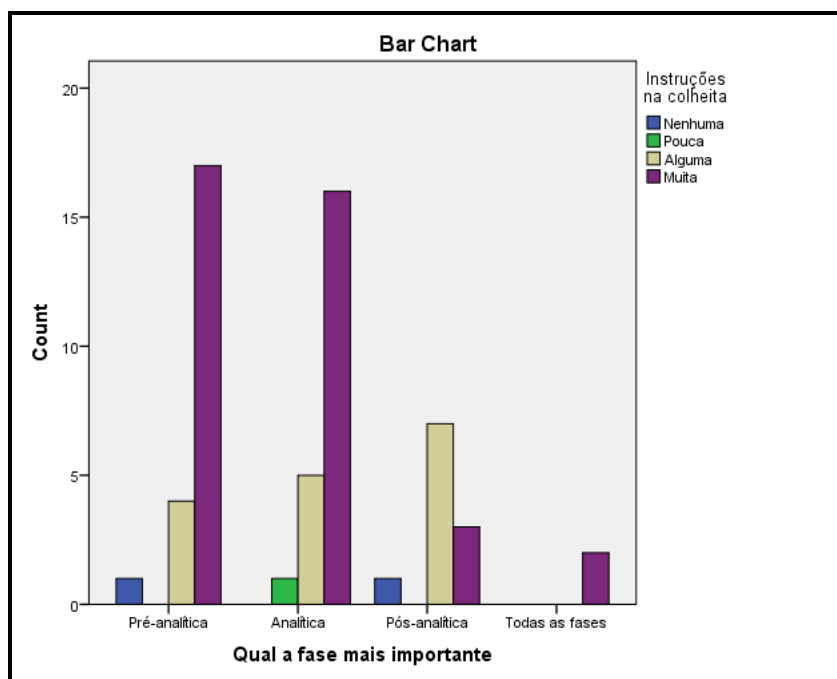


Figura 4: Correlação entre as fases de processamento da amostra e as instruções na colheita.

Relativamente à questão: “Qual a importância que dá às informações do clínico (médico assistente) na prescrição da análise?” correlacionada com as fases no processamento da amostra, podemos destacar que é novamente nas fases pré-analítica e analítica que os técnicos dão mais importância à informação clínica sobre o utente (N=33).

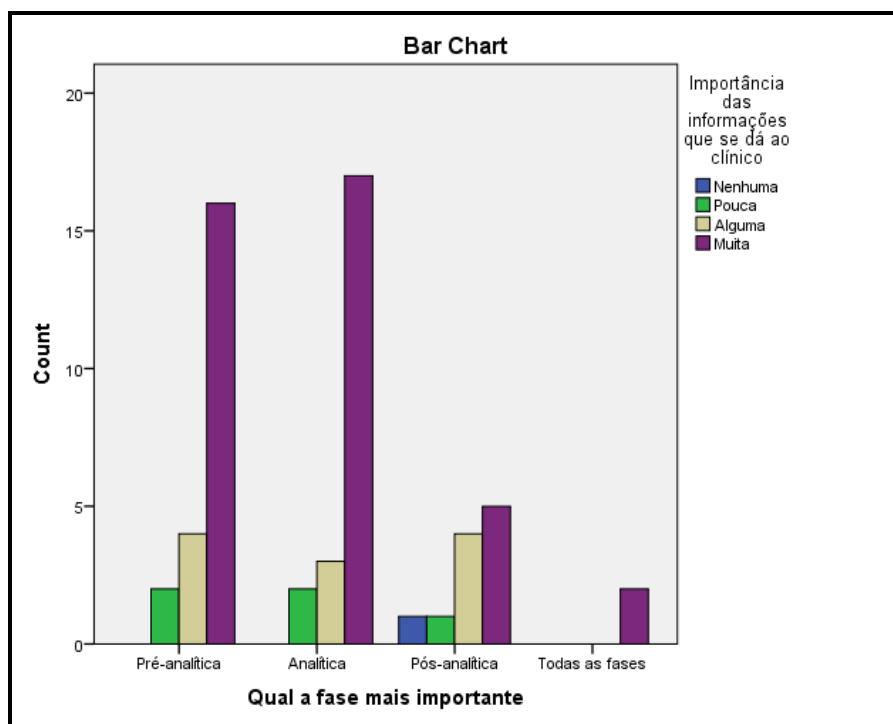


Figura 5: Correlação entre as fases no processamento da amostra e a importância da informação clínica.

No que diz respeito à questão qual a importância das informações que dá ao clínico, correlacionada com a categoria profissional, podemos constatar que são os estudantes de medicina (N=19) que dão muita importância à informação clínica.

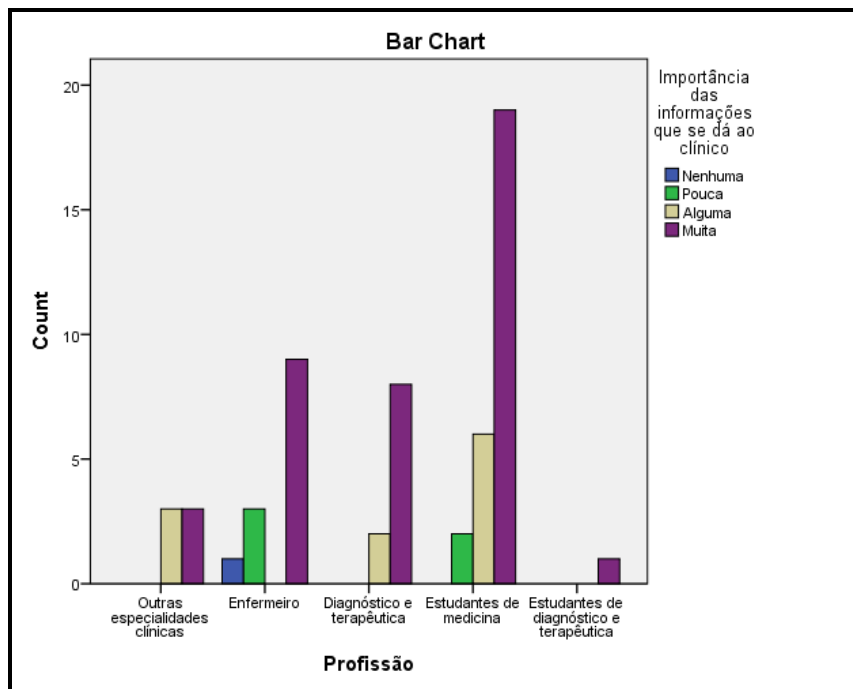


Figura 6: Correlação entre as categorias profissionais e a importância da informação clínica.

Relativamente, à correlação entre as instruções de colheita e a profissão, podemos observar que são novamente os estudantes de medicina que dão muita importância às instruções na colheita (N=18).

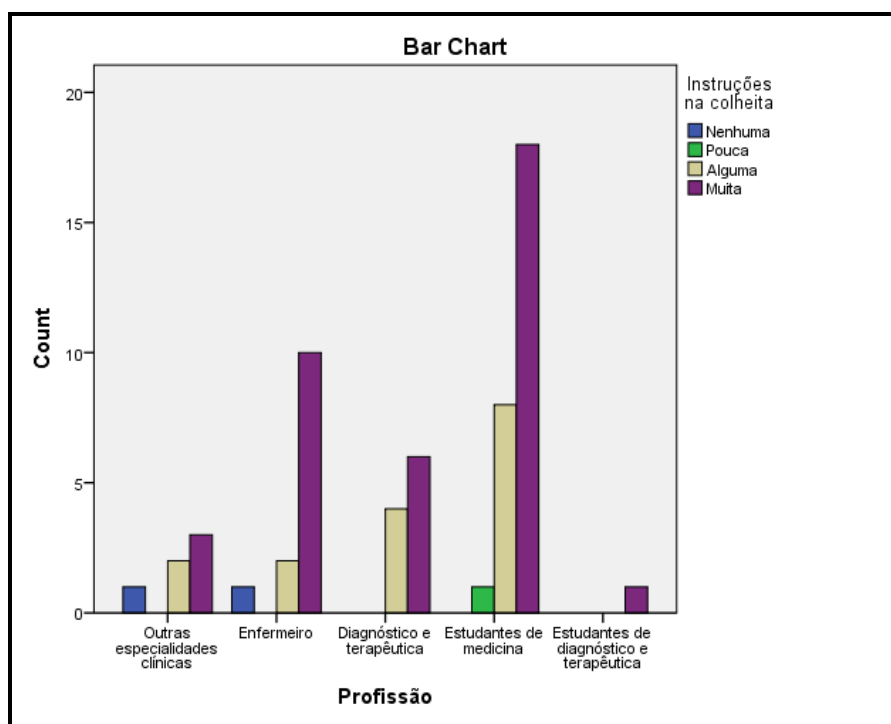


Figura 7: Correlação entre as categorias profissionais e a importância das instruções na colheita.

6.3. Resultados

Foi evidente que as fases consideradas mais importantes foram a pré-analítica e a analítica, observando-se uma pequena percentagem de elementos da amostra que consideram que todas as fases são cruciais e uma percentagem significativa que atribui grande importância à fase pós analítica.

Relativamente à correlação entre as profissões dos inquiridos e as fases no processamento da amostra, realça-se que a grande maioria revela que a fase mais importante é a fase pré-analítica, destacando-se os estudantes de medicina (N=12). No entanto, podemos observar que os técnicos de diagnóstico e terapêutica de outras áreas profissionais (N=7) consideram a fase analítica como a mais importante.

No que diz respeito à questão, qual a importância das informações que dá ao clínico, correlacionada com a categoria profissional, podemos constatar que todos os grupos atribuem muita importância.

Relativamente, à correlação entre as instruções de colheita e a profissão, podemos verificar que todos os grupos dão muita importância às instruções dadas na colheita.

6.4. Discussão

Os dados apresentados correspondem a uma amostra de 58 inquiridos de diferentes profissões e alunos das mesmas na área da saúde, com o objectivo de perceber a realidade local no que respeita ao tema desta tese “O impacto da fase pré-analítica nos resultados”.

Embora o número dos elementos grupos fosse díspar, podemos observar que todos os grupos são sensíveis às questões levantadas, embora o grupo dos enfermeiros atribua a mesma importância às duas fases pré-analítica e analítica e o grupo dos técnicos de diagnóstico e terapêutica de outras áreas profissionais atribuem mais importância à fase analítica.

7. Conclusão

O objectivo desta escolha, de classes diferentes da amostra, é justificado por serem possíveis intervenientes em estudos clínicos futuros e uma filtragem poder vir a ser útil para compreender onde e como se deve actuar para atingir a qualidade na fase pré-analítica, uma vez que os estudos são na sua maioria desenvolvidos em hospitais, estando envolvidos nos estudos várias categorias de profissionais que muitas das vezes desconhecem os requisitos de boa qualidade das amostras. Estas amostras são, por vezes, enviadas para laboratórios especializados em determinadas tecnologias, que recebem a amostra, aplicam a tecnologia de ponta existente no laboratório e, muitas vezes, o resultado apresenta desvios que não correspondem ao valor esperado no estudo dos casos clínicos.

A atribuição dos resultados considerando vários aspectos, tais como a variação biológica interindividual “*Set point*”, a variação intra-individual (oscilações de resultados em torno de um ponto de ajuste homeostático) é tão importante para o clínico, como para o profissional que avalia os resultados. Esta informação pode conduzir o laboratório a fazer uma escolha de testes mais adequada para a situação verificada, o que irá proporcionar ao clínico um resultado adequado e correspondente à realidade do doente em questão, proporcionando-lhe um adequado *follow-up* do doente em relação ao equilíbrio homeostático, traduzindo-se em satisfação para o cliente/utente.

8. Limitações

Considerando que a amostra obtida era constituída por grupos díspares, pode a realidade estar comprometida pelo que se sugere que outros estudos sejam desenvolvidos.

9. Bibliografia

AACC Hosts the International Congress on Clinical Chemistry, 9–14 September 1956, in New York, and *Clinical Chemistry* publishes the abstracts (*Clin Chem* 1956; 2:225–95 and 383–93).

Ackermann PG, et al. Blood Lipids in Young and Old Individuals. *Clin Chem* 1959; 5:100 – 5.

Adlersberg D, et al. Electrophoresis and Monomolecular Layer Studies with Serum Lipoproteins. *Clin Chem* 1955; 1:18 – 33.

Albert A. On the Use and Computation of Likelihood Ratios in Clinical Chemistry. *Clin Chem* 1982; 28:1113–9.

Allain CC, et al. Enzymatic Determination of Total Serum Cholesterol. *Clin Chem* 1974; 20:470 –5.

Reversed-Phase Liquid Chromatography. *Clin Chem* 1982;28:527 – 31.

Andersen L, et al. Enzyme Immunoassay for Intact Human Insulin in Serum or Plasma. *Clin Chem* 1993; 39:578 –82.

Anderson JT, et al. Cholesterol in Serum and Lipoprotein Fractions: its Measurement and Stability. *Clin Chem* 1956; 2:145–59

Anderson NL, et al. The TYCHO System for Computer Analysis of Two-Dimensional Gel Electrophoresis Patterns. *Clin Chem* 1981; 27:1807–20.

Anhalt JP, Brown SD. High-Performance Liquid-Chromatographic Assay of Aminoglycoside Antibiotics in Serum. *Clin Chem* 1978; 24:1940 –7.

Applications in Prostate and Breast Cancers. *Clin Chem* 1996; 42:675– 84.

Arnold LJ, et al. Assay Formats Involving Acridinium-Ester-Labeled DNA Probes. *Clin Chem* 1989; 35:1588 –94).

Astrup P. A New Approach to Acid-Base Metabolism. *Clin Chem* 1961; 7:1 – 15.

Babson AL, et al. Phenolphthalein Monophosphate as a Substrate for Serum Alkaline Phosphatase. *Clin Chem* 1966; 12:482–90.

Bales JR, et al. Urinary Excretion of Acetaminophen and its Metabolites as Studied by Proton NMR Spectroscopy. *Clin Chem* 1984; 30:1631 – 6.

Bales JR, et al. Use of High-Resolution Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy for Rapid Multicomponent Analysis of Urine. *Clin Chem* 1984; 30:426 –32.

Balzan S, et al. Digoxin-Like Immunoreactivity in Normal Human Plasma and Urine, as Detected by a Solid-Phase Radioimmunoassay. *Clin Chem* 1984; 30:450 –1.

Banfi G et al Preanalytical phase of sport biochemistry and haematology *Journal of sports medicine and physical fitness* 2003

Baum H, et al. Evaluation and clinical performance of a second generation cardiospecific assay for troponin T. *Clin Chem* 1997; 43:1877– 84.

Baxter RC, et al. RIA for Somatomedin C: Comparison with Radioreceptor Assay in Patients with Growth-Hormone Disorders, Hypothyroidism, and Renal Failure. *Clin Chem* 1982; 28:488 –95.

Bayoumi RA, Rosalki SB. Evaluation of Methods of Coenzyme Activation of Erythrocyte Enzymes for Detection of Deficiency of Vitamin B1, B2, and B6. *Clin Chem* 1976; 22:327–35

Belfield A, Goldberg DM. Application of a Continuous Spectrophotometric Assay for 5'Nucleotidase Activity in Normal Subjects and Patients with Liver and Bone Disease. *Clin Chem* 1969; 15:931–9.

Bergerman J. Determination of LDH Isoenzymes. *Clin Chem* 1966; 12:797– 802.

Bergmeyer HU, et al. Optimization of Methods for Aspartate Aminotransferase and Alanine Aminotransferase. *Clin Chem* 1978; 24:58– 73.

Bernard AM, Lauwerys RR. Continuous-Flow System for Automation of Latex Immunoassay by Particle Counting. *Clin Chem* 1983; 29: 1007–11.

Berrett CR, McNeil C. The Quantitation of Major 17-Ketosteroid Fraction by Gas-Liquid Chromatography. *Clin Chem* 1966; 12:399 – 405.

Bizzaro N, et al. Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis. *Clin Chem* 2001;47:1089 – 93.

Bodor GS, et al. Cardiac troponin T composition in normal and regenerating human skeletal muscle. *Clin Chem* 1997; 43:476–84.

Bonde M, et al. Immunoassay for Quantifying Type I Collagen Degradation Products in Urine Evaluated. *Clin Chem* 1994; 40:2022–5.

Bonini P, et al. Errors in laboratory medicine. *Clin Chem* 2002; 48:691– 8.

Bonini P. et al Erros em Laboratório Clínico *Clin Chem* 48:5: 691-698: 2002 Mini-revisão

Boscato LM, Stuart MC. Incidence and Specificity of Interference in Two-Site Immunoassays. *Clin Chem* 1986; 32:1491–5.

Bossuyt PM, et al. Towards complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy: the STARD initiative. *Clin Chem* 2003; 49:1– 6.

Bouillon R, et al. Measurement of 25-Hydroxyvitamin D3 in Serum. *Clin Chem* 1976; 22:364–8.

Bowers GN Jr. Clinical Chemistry Analyte Reference Systems Based on true Value. *Clin Chem* 1991;37: 1665– 6.

Bowers GN, McComb RB. A Continuous Spectrophotometric Method for Measuring the Activity of Serum Alkaline Phosphatase. *Clin Chem* 1966; 12:70–89.

Bowman RE, Wolf RC. A Rapid and Specific Ultramicro Method for Total Serum Cholesterol. *Clin Chem* 1962; 8:302– 9.

Braun A, et al. Detecting CFTR gene mutations by using primer oligo base extension and mass spectrometry. *Clin Chem* 1997; 43:1151– 8.

Bronzert TJ, Brewer HB Jr. New Micromethod for Measuring Cholesterol in Plasma Lipoprotein Fractions. *Clin Chem* 1977; 23:2089 –98.

Brooks L, Olken HG. An Automated Fluorometric Method for Determination of Lactic Dehydrogenase in Serum. *Clin Chem* 1965; 11:748– 62.

Brown RK, et al. Serum Lipoproteins: Chemical and Enzymatic Studies. *Clin Chem* 1955;1: 83– 92.

Bruns De,et al. Toward a checklist for reporting of studies of diagnostic accuracy of medical tests. *Clin Chem* 2000; 46:893–5.

Bryan DJ, et al. Profile of Admission Chemical Data by Multichannel Automation: an Evaluative Experiment. *Clin Chem* 1966; 12:137– 43.

Bryan J. et al. Profile of Admission Chemical Data by Multichannel Automation: An Evaluative Experiment: *Clin Chem* 1966; 12:137– 43.

Bucolo G, DavidH. Quantitative Determination of Serum Triglycerides by the use of Enzymes. *Clin Chem* 1973; 19:476–82.

Buffone GJ, Darlington GJ. Isolation of DNA from Biological Specimens without Extraction with Phenol. *Clin Chem* 1985; 31:164 –5.

Burd JF, et al. Homogeneous Reactant-Labeled Fluorescent Immunoassay for Therapeutic Drugs Exemplified by Gentamicin Determination in Human Serum. *Clin Chem* 1977; 23:1402 – 8.

Burtis CA, Warren KS. Identification of Urinary Constituents Isolated by Anion-Exchange Chromatography. *Clin Chem* 1968; 14: 290–301

Cali JP, et al. A Referee Method for the Determination of Total Calcium in Serum. *Clin Chem* 1973; 19: 1208 – 13.

Cannan RK. Proposal of the Distribution of a Certified Standard for Use in Hemoglobinometry. *Clin Chem* 1955; 1:151– 6.

Carpenter KJ, et al. Estimation of Total Cholesterol in Serum by a Micro Method. *Clin Chem* 1957; 3:233– 8.

Carruthers SG, et al. Simplified Liquid-Chromatographic Analysis for Cyclosporine A, and Comparison with RIA. *Clin Chem* 1983; 29:180 –3.

Cejka J. Enzyme Immunoassay for Factor VIII-Related Antigen. *Clin Chem* 1982; 28:1356–8.

Chace DH, et al. Rapid diagnosis of MCAD deficiency: quantitative analysis of octanoylcarnitine and other acylcarnitines in newborn blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1997; 43:2106 –13

Chasnoff IJ, et al. Cocaine and Pregnancy: Clinical and Toxicological Implications For the Neonate. *Clin Chem* 1989; 35: 1276– 8.

Chiem NH, Harrison DJ. Microchip systems for immunoassay: an integrated immunoreactor with electrophoretic separation for serum theophylline determination. *Clin Chem* 1998;44:591 – 8

Chmielewska J, Wiman B. Determination of Tissue Plasminogen Activator and Its “Fast” Inhibitor in Plasma. *Clin Chem* 1986; 32:482–5.

Christenson RH, et al. Cardiac troponin T and cardiac troponin I: relative values in short-term risk stratification of patients with acute coronary syndromes. *Clin Chem* 1998; 44:494–501).

Cillo AA. A Simplified, Economic, Working “Computer Assisted Laboratory Information System” (CALIS). *Clin Chem* 1968; 14:197 – 207.

Clerico A, et al. Diagnostic accuracy and prognostic relevance of the measurement of cardiac natriuretic peptides: a review. *Clin Chem* 2004; 50:33–50.

Clin Chem 1997;43:2262 – 7.

Cole LA, et al. Hyperglycosylated human chorionic gonadotropin (invasive trophoblast antigen) immunoassay: a new basis for gestational down syndrome screening. *Clin Chem* 1999; 45:2109– 19

Colehour JK. Separation of Serum Proteins by Density Gradient Electrophoresis. *Clin Chem* 1960;6: 485-94.

Contois JH. Reference intervals for plasma apolipoprotein B determined with a standardized commercial

Corn M, Berberich R. Rapid Fluorometric Assay for Plasma Warfarin. *Clin Chem* 1967; 13:126 –31.

Cornbleet PJ, Gochman N. Incorrect Least-Squares Regression Coefficients in Method-Comparison Analysis *Clin Chem* 1979; 25:432– 8.

Creveling CR, et al. Use of Dansyl Derivatives and Mass Spectrometry for Identification of Biogenic Amines. *Clin Chem* 1968; 14:302–9.

Curme HG, et al. Multilayer Film Elements for Clinical Analysis: General Concepts. *Clin Chem* 1978; 24:1335–42.

D'Haese PC, et al. Measurement of aluminum in serum, blood, urine, and tissues of chronic hemodialyzed patients by use of electrothermal atomic absorption spectrometry. *Clin Chem* 1985; 31:24 –9.

Davis GE, et al. High-Performance Liquid Chromatographic Separation and Quantitation of Nucleosides in Urine and Some Other Biological Fluids. *Clin Chem* 1977; 23:1427– 35.

Davis TP, et al. High-Performance Liquid-Chromatographic Separation and Fluorescence Measurement of Biogenic Amines in Plasma, Urine, and Tissue. *Clin Chem* 1978; 24: 1317–24.

Dean JA. Use of Nuclear Magnetic Resonance in Determining Molecular Structure of Urinary Constituents of Low Molecular Weight. *Clin Chem* 1968; 14:326 –38.

Deaton CD, et al. Use of Laser Nephelometry in the Measurement of Serum Proteins. *Clin Chem* 1976; 22: 1465– 71

Del Villano BC, et al. Radioimmunometric Assay for a Monoclonal Antibody-Defined Tumor Marker, CA 19-9. *Clin Chem* 1983; 29:549 –52.

Demacker PN, et al. A Study of the Use of Polyethylene Glycol in Estimating Cholesterol in Highdensity Lipoprotein. *Clin Chem* 1980; 26:1775–9.

DeRuyter MG, De Leenheer AP. Simultaneous Determination of Retinol and Retinyl Esters in Serum or Plasma by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography. *Clin Chem* 1978; 24:1920 –3.

DiDomenico N, et al. COBAS AMPLICOR: fully automated RNA and DNA amplification and detection system for routine diagnostic PCR. *Clin Chem* 1996; 42:1915–23.

Dingman JF, et al. Glass-Fiber Paper Chromatography of Adrenal and Gonadal Steroids. *Clin Chem* 1960; 6:228 –32.

Doumas BT, et al. Candidate Reference Method for Determination of Total Bilirubin in Serum: Development and Validation. *Clin Chem* 1985; 31:1779–89.

Doumas BT. IFCC Documents and Interpretation of SI Units –A Solution Looking for a Problem *Clin Chem* 1979; 25:655-8

Doumas BT. Standards for Total Serum Protein Assays—a Collaborative Study. *Clin Chem* 1975; 21:1159–66.

Dubowski KM. An α -Toluidine Method for Body Fluid Glucose Determination. *Clin Chem* 1962; 8: 215–35.

Dudley RA, et al. Guidelines for Immunoassay Data Processing. *Clin Chem* 1985; 31:1264 -71

Dufour DR, et al. Diagnosis and monitoring of hepatic injury. I. Performance characteristics of laboratory tests. *Clin Chem* 2000; 46:2027– 49.

Dufour DR, et al. Diagnosis and monitoring of hepatic injury. II. Recommendations for use of laboratory tests in screening, diagnosis, and monitoring. *Clin Chem* 2000; 46:2050–68.

Dunn RT, Foster LB. Radioassay of Serum Folate. *Clin Chem* 1973; 19:1101–5.

Durán H Planeamento da Saúde Aspectos Conceptuais e Operativos.2000

Dybkaer R, et al. IFCC Documents and Interpretation of SI Units—an Adaptable Solution. *Clin Chem* 1980;26:369 – 70.

Eisenhofer G, et al. Simultaneous Liquid-Chromatographic Determination of 3,4-Dihydroxyphenylglycol, Catecholamines, and 3,4-Dihydroxyphenylalanine in Plasma, and Their Responses to Inhibition of Monoamine Oxidase. *Clin Chem* 1986; 32:2030 –3.

Ertlingshausen G. Automated Reaction-Rate Method for Determination of Serum Creatinine with the CentrifChem. *Clin Chem* 1971; 17:696 – 700.

Fabiny DL, et al. Increased Rate of Analysis By Use of a 42-Cuvette GeMSAEC Fast Analyzer. *Clin Chem* 1971; 17:686 –95.

Ferguson RA, et al. Ultrasensitive Detection of Prostatespecific Antigen by a Time-Resolved Immunofluorometric Assay and the Immulite Immunochemiluminescent Third-Generation Assay: Potential

Finley PR, et al. Cholesterol in High-Density Lipoprotein: Use of Mg^{2+} /Dextran Sulfate in its Enzymic Measurement. *Clin Chem* 1978; 24: 931–3.

Fischer DS, Price DC. A Simple Serum Iron Method Using the New Sensitive Chromogen Tripyridyl-s-triazine. *Clin Chem* 1964; 10: 21–31.

Foster LB, Dunn RT. Stable Reagents for Determination of Serum Triglycerides by a Colorimetric Hantzsch Condensation Method. *Clin Chem* 1973; 19:338–40.

Franke WW, Berendonk B. Hormonal doping and androgenization of athletes: a secret program of the German Democratic Republic government. *Clin Chem* 1997; 43:1262–79

Fraser CG, et al. Setting Analytical Goals for Random Analytical Error in Specific Clinical Monitoring Situations. *Clin Chem* 1990; 36: 1625– 8.

Free AH, et al. Simple Specific Test for Urine Glucose. *Clin Chem* 1957;3: 163– 8.

Friedewald WT, et al. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, without use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18:499 –502.

Friedman RB. Effects of Diseases on Clinical Laboratory Tests. *Clin Chem* 1980; 26:1D–476D.

Fruchart JC, et al. Simultaneous Measurement of Plasma Apolipoproteins A-I and B by Electroimmunoassay. *Clin Chem* 1982; 28:59– 62.

Fulton RJ, et al. Advanced multiplexed analysis with the FlowMetrix™ system. *Clin Chem* 1997;43: 1749– 56.

Fyhrquist F, et al. RIA of Plasma Renin Activity. *Clin Chem* 1976; 22:250 – 6.

Gaebler OH, et al. Study of the Determination of Heavy Water in Plasma or Urine. *Clin Chem* 1960; 6: 549- 57.

Galloway LS, et al. Micro Determination of Cholesterol by Use of 0.04 mL of Serum Blood. *Clin Chem* 1957; 3:226– 32.

Gama P. Ferramentas da Qualidade Instituto Português da Qualidade Gestão da Qualidade. Ficha técnica

Gambhir KK, et al. Insulin Radioreceptor Assay for Human Erythrocytes. *Clin Chem* 1977; 23:1590–5.

Ganrot K, Laurell CB. Measurement of IgG and Albumin Content of Cerebrospinal Fluid, and its Interpretation. *Clin Chem* 1974; 20:571–3

Garry PJ, Routh JI. A Micro Method for Serum Cholinesterase. *Clin Chem* 1965;11: 91– 6.

Gerhardt W. S-troponin T in Suspected Ischemic Myocardial Injury Compared with Mass and Catalytic Concentrations of S-Creatine Kinase Isoenzyme MB. *Clin Chem* 1991; 37:1405–11.

Giuseppe Lippi et al Recommendations for detection and management of

Gochman N, Givelber H. Automated, Simultaneous Microdetermination of Calcium and Magnesium by Atomic Absorption. *Clin Chem* 1970; 16:229 –34.

Goldberg CA. Identification of Human Hemoglobins. *Clin Chem* 1957; 3:1– 19.

Goodwin JF. Spectrophotometry of Proline in Plasma and Urine. *Clin Chem* 1972; 18:449 –53.

Gottfried SP, Rosenberg B. Improved Manual Spectrophotometric Procedure for Determination of Serum Triglycerides. *Clin Chem* 1973; 19:1077– 8.

Grannis GF. Plasma Fibrinogen: Determination, Normal Values, Physiopathologic Shifts, and Fluctuations. *Clin Chem* 1970; 16:486 – 94.

Hammerer-Lercher A, et al. Natriuretic peptides as markers of mild forms of left ventricular dysfunction: effects of assays on diagnostic performance of markers. *Clin Chem* 2004; 50:1174–83.

Harrison NB. Semiautomatic Pipetting Device (the Governor Pipet) for Clinical Chemistry Procedures. *Clin Chem* 1966; 12:890–3

Heinrich J. Relationship of Lipoprotein (a) to Variables of Coagulation and Fibrinolysis in a Healthy Population *Clin Chem* 1991; 37:1950–4,

Henry PD, et al. Rapid Separation of Plasma Creatine Kinase Isoenzymes by Batch Adsorption on Glass Beads. *Clin Chem* 1975; 21:844 –9.

Hess JW, et al. Serum Creatine Phosphokinase: Evaluation of a Commercial Spectrophotometric Method. *Clin Chem* 1967;13:994 – 1005.

Hill JB, et al. An Automated Procedure for Blood Phenylalanine. *Clin Chem* 1965; 11: 541– 6.

Hill JB. Automated fluorometric method for determination of serum calcium. *Clin Chem* 1965; 11:122–30.

Hoek JA, et al. Laboratory and Clinical Evaluation of an Assay of Thrombin-Antithrombin III Complexes in Plasma. *Clin Chem* 1988; 34:2058–62.

Hoffmann G, et al. Quantitative Analysis for Organic Acids in Biological Samples: Batch Isolation Followed by Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Analysis. *Clin Chem* 1989; 35:587–95.

HOLLENSEAD S “Errors in Pathology and Laboratory Medicine: Consequences and Prevention” *Journal of Surgical Oncology* 2004; 88:161–181

Horning MG, et al. Use of Saliva in Therapeutic Drug Monitoring. *Clin Chem* 1977; 23:157 – 64.

Hulett HR, et al. Development and Application of a Rapid Cell Sorter. *Clin Chem* 1973; 19: 813– 6.

Immunoturbidimetric assay: results from the Framingham Offspring Study. *Clin Chem* 1996; 42:515–23.

Jacobsen DW, et al. Rapid HPLC Determination of total Homocysteine and Other Thiols in Serum and Plasma: Sex Differences and Correlation with Cobalamin and Folate Concentrations in Healthy Subjects *Clin Chem* 1994; 40:873– 81.

Jeppsson JO, et al. Measurement of Hemoglobin A1c by a New Liquid-Chromatographic Assay: Methodology, Clinical Utility, and Relation to Glucose Tolerance Evaluated. *Clin Chem* 1986; 32:1867– 72.

JJ, Favreau L. A New Simple Semimicro Method for Colorimetric Determination of Urea. *Clin Chem* 1963;9:102 – 8.

Jolley ME, et al. Fluorescence Polarization Immunoassay. I. Monitoring Aminoglycoside Antibiotics in Serum and Plasma. *Clin Chem* 1981; 27:1190–7;

Jones AC, et al. Optimal temperature selection for mutation detection by denaturing HPLC and comparison to single-stranded conformation polymorphism and heteroduplex analysis. *Clin Chem* 1999;45:1133 – 40.

Jones G. Assay of Vitamin D2 and D3, and 25-Hydroxyvitamin D2 and D3 in Human Plasma by Highperformance Liquid Chromatography. *Clin Chem* 1978; 24:287–98.

Jorgenson JW, Lukacs KD. Free-Zone Electrophoresis in Glass Capillaries. *Clin Chem* 1981; 27:1551–3.

Jortani SA, et al. The role of the clinical laboratory in managing chemical or biological terrorism. *Clin Chem* 2000;46:1883 – 93.

Kabra PM, et al. Simultaneous Measurement of Phenobarbital, Phenytoin, Primidone, Ethosuximide, and Carbamazepine in serum by Highpressure Liquid Chromatography. *Clin Chem* 1977; 23: 1284–8.

Kadish AH, Hall DA. A New Method for the Continuous Monitoring of Blood Glucose by Measurement of Dissolved Oxygen. *Clin Chem* 1965;11:869 – 75.

Kafka MS, Bondy PK. Total Neutral 17-Ketosteroids: Clinical Method for Measurement. *Clin Chem* 1957; 3:178 –84.

Kaplan A, Savory J. Evaluation of a Cellulose Acetate Electrophoresis System for Serum Protein Fractionation. *Clin Chem* 1965; 11:937– 42.

Katruxha AG, et al. Troponin I is released in bloodstream of patients with acute myocardial infarction not in free form but as complex., *Clin Chem* 1997; 43:1379–85.

Katus HA, et al. Development and In Vitro Characterization of a New Immunoassay of Cardiac Troponin T. *Clin Chem* 1992; 38: 386 – 93.

Ke D, et al. Development of conventional and real-time PCR assays for the rapid detection of group B streptococci. *Clin Chem* 2000;46:324 – 31.

Keenan MP, et al. The Determination of Catecholamines in Blood. *Clin Chem* 1959; 5:239– 47.

Kessler G, Wolfman G. An Automated Procedure for the Simultaneous Determination of Calcium and Phosphorous. *Clin Chem* 1964; 10:686 – 703.

Keys A, et al. Effects on Diets on Blood Lipids in Man: Particularly Cholesterol and Lipoproteins. *Clin Chem* 1955; 1:34 – 52.

Khym JX. An Analytical System for Rapid Separation of Tissue Nucleotides at Low Pressures on Conventional Anion Exchangers. *Clin Chem* 1975; 21: 1245– 52

Killingsworth LM, Savory J. Automated Immune Chemical Procedures for Measurement of Immunoglobulins IgG, IgA, and IgM in Human Serum. *Clin Chem* 1971; 17:936–40.

Kingsley GR, Getchell G. Test Tube Extraction Method for the Microdetermination of Urinary 17 Ketosteroids. *Clin Chem* 1957; 3:624 – 31.

Klein B, et al. Rapid Method for the Quantitative Determination of Serum Alkaline Phosphatase. *Clin Chem* 1960;6:269 – 75.

Klein B. A System of Clinical Chemical Analysis. *Clin Chem* 1959; 5: 62– 70.

Kleinveld HA, et al. Improved Measurement of Low-Density-Lipoprotein Susceptibility to Copper-Induced Oxidation: Application of a Short Procedure for Isolating Low-Density Lipoprotein. *Clin Chem* 1992; 38:2066 – 72.

Klinenberg JR, et al. An Enzymatic Spectrophotometric Method for the Determination of Xanthine and Hypoxanthine. *Clin Chem* 1967; 13:834–46.

Klugerman MR, Bout -well JH. Commercial Control Sera in the Clinical Chemistry Laboratory. *Clin Chem* 1961; 7:185– 91.

Kroman HS, et al. Estrogens in Human Pregnancy Plasma. I. Studies with Gas Chromatography. *Clin Chem* 1966;12:670 – 80.

Krone N, et al. Comprehensive analytical strategy for mutation screening in 21-hydroxylase deficiency. *Clin Chem* 1998;44:2075 – 82.

KyhseAndersen L, et al. Serum Cystatin C, Determined by a Rapid, Automated Particle-Enhanced Turbidimetric Method, is a Better Marker than Serum Creatinine for Glomerular Filtration Rate *Clin Chem* 1994; 40:1921– 6).

Ladenson JH, Bowers GN Jr. Free Calcium in Serum. I. Determination with the Ion-Specific Electrode, and Factors Affecting the Results. *Clin Chem* 1973; 19: 565– 74.

Lau KH, et al. Characterization and Assay of Tartrate-Resistant Acid Phosphatase Activity in Serum: Potential Use to Assess Bone Resorption. *Clin Chem* 1987; 33: 458–62.

Laurell CB, et al. Buffer Composition in Paper Electrophoresis: Considerations on its Influence, with Special Reference to the Interaction between Small Ions and Proteins. *Clin Chem* 1956; 2:99 –111.

Lay MJ, Wittwer CT. Real-time fluorescence genotyping of factor V Leiden during rapid-cycle PCR.

Lazaroni JA. The Stability of Lactic Dehydrogenase in Serum. *Clin Chem* 1958; 4:379– 81.

Lazaroni JA. The Stability of Lactic Dehydrogenase in Serum. *Clin Chem* 1958; 4:379– 81.

Leinonen J, et al. Double-Label Time-Resolved Immunofluorometric Assay of Prostate-Specific Antigen and of its Complex with α_1 -Antichymotrypsin. *Clin Chem* 1993; 39:2098 –103.

Lensmeyer GL, Fields BL. Improved Liquid-Chromatographic Determination of Cyclosporine, with Concomitant Detection of a Cell-Bound Metabolite. *Clin Chem* 1985; 31:196 – 201.

Lenzen HJ, et al. Association of Apolipoprotein E Polymorphism, Low-Density Lipoprotein Cholesterol, and Coronary Artery Disease. *Clin Chem* 1986; 32:778– 81.

Levy AL, Rottino A. Effect of Disease States on the Ribonuclease Concentration of Body Fluids. *Clin Chem* 1960; 6:43–51.

Li J, et al. Proteomics and bioinformatics approaches for identification of serum biomarkers to detect breast cancer. *Clin Chem* 2002; 48:1296 –304.

Liew M, et al. Genotyping of single-nucleotide polymorphisms by high-resolution melting of small amplicons. *Clin Chem* 2004; 50:1156–64.

Lilja H, et al. Prostate-Specific Antigen in Serum Occurs Predominantly in Complex with α_1 Antichymotrypsin. *Clin Chem* 1991; 37:1618 – 25.

Lippi et al.: Preanalytical quality improvement: in quality we trust *Clin Chem Lab Med* 2013; 51(1): 229–241

Lippi G. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing *Clin Chem Lab Med* 2006; 44(4):358–365

Lizana J, Hellsing K. Polymer Enhancement of Automated Immunological Nephelometric Analysis, as Illustrated by Determination of Urinary Albumin. *Clin Chem* 1974; 20:415–20.

Llopis M. Quality Assurance in the Preanalytical Phase 2012

Lo YMD, et al. Quantitative abnormalities of fetal DNA in maternal serum in preeclampsia. *Clin Chem* 1999; 45:184–8.

Logan JE, Allen RH. Control Serum Preparations. *Clin Chem* 1968;14:437 – 48.

Ma Z, et al. RIA of Leptin in Human Plasma. *Clin Chem* 1996; 42:942 – 6.

Mair J, et al. Cardiac Troponin T in Diagnosis of Acute Myocardial Infarction *Clin Chem* 1991; 37:845–52.

Mair J, et al. Equivalent Early Sensitivities of Myoglobin, Creatine Kinase MB Mass, Creatine Kinase Isoform Ratios, and Cardiac Troponins I and T For Acute Myocardial Infarction. *Clin Chem* 1995; 41:1266 –72.

Mantero G, et al. DNA enzyme immunoassay: general method for detecting products of polymerase chain reaction. *Clin Chem* 1991; 37: 422–9.

Marbach EP, Weil MX. Rapid Enzymatic Measurement of Blood Lactate and Pyruvate; Use and Significance of Metaphosphoric Acid as a Common Precipitant. *Clin Chem* 1967; 314 –25.

Marcovina SM, et al. Effect of the Number of Apolipoprotein (a) Kringle 4 Domains on Immunochemical Measurements of Lipoprotein (a). *Clin Chem* 1995; 41:246–55

Marsch WH, et al. Automated and Manual Direct Methods for the Determination of Blood Urea. *ClinChem* 1965; 11: 624 –7.

Marsh WH, et al. Adaptation of an Alkaline Phosphatase Method for Automatic Colorimetric Analysis. *Clin Chem* 1959; 5:119 –26

Matousek JP, Stevens BJ. Biological Applications of the Carbon Rod Atomizer in Atomic Absorption Spectroscopy. 1. Preliminary Studies on Magnesium, Iron, Copper, Lead, and Zinc in Blood and Plasma. *Clin Chem* 1971; 17: 363– 8.

Matson WR, et al. n-Electrode Three-Dimensional Liquid Chromatography with Electrochemical Detection for Determination of Neurotransmitters. *Clin Chem* 1984; 30:1477 – 88

McLaurin MD, et al. Cardiac troponin I, cardiac troponin T, and creatine kinase MB in dialysis patients without ischemic heart disease: evidence of cardiac troponin T expression in skeletal muscle. *Clin Chem* 1997; 43:976–82.

Melkko J, et al. RIA of the carboxyterminal propeptide of human type I procollagen. *Clin Chem* 1990; 36:1328 –32.

Mercer DW, Varat MA. Detection of Cardiac-Specific Creatine Kinase Isoenzyme in Serum with Normal or Slightly Increased total Creatine Kinase Activity. *Clin Chem* 1975; 21:1088 –92.

Mercer DW. Separation of Tissue and Serum Creatine Kinase Isoenzymes by Ionexchange Column Chromatography. *Clin Chem* 1974; 20: 36–40.

Meret S, Henkin RI. Simultaneous Direct Estimation by Atomic Absorption Spectrophotometry of Copper and Zinc in Serum, Urine, and Cerebrospinal Fluid. *Clin Chem* 1971; 17:369 –73.

Mezzasoma L, et al. Antigen microarrays for serodiagnosis of infectious diseases. *Clin Chem* 2002;48:121 – 30.

Morgenstern S, et al. An Automated *p*-Nitrophenyl Phosphate Serum Alkaline Phosphatase Procedure for the “Robot Chemist”. *Clin Chem* 1965; 11: 889–97.

Morgenstern S, et al. An Automated *p*-Nitrophenylphosphate Serum Alkaline Phosphatase Procedure for the Autoanalyzer. *Clin Chem* 1965; 11: 876– 88.

Morgenstern S, et al. Automated Determination of Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase. *Clin Chem* 1966; 12:95–111.

Moshage H, et al. Nitrite and Nitrate Determinations in Plasma: a Critical evaluation. *Clin Chem* 1995; 41:892– 6.

Moyer TP, et al. Analysis for Urinary Catecholamines by Liquid Chromatography with Amperometric Detection: Methodology and Clinical Interpretation of Results *Clin Chem* 1979; 25:256– 63.

Muller-Bardorff M, et al. Improved troponin T ELISA specific for cardiac troponin T isoform: assay development and analytical and clinical validation. *Clin Chem* 1997; 43:458–66.

Nagatsu T, Udenfriend S. Photometric Assay of Dopamine-Hydroxylase Activity in Human Blood. *Clin Chem* 1972; 18:980 –3.

Natelson S, Menning CM. Improved Methods of Analysis for Oxygen, Carbon Monoxide, and Iron on Fingertip Blood. *Clin Chem* 1955; 1:165–79.

Nauck M, et al. Methods for measurement of LDLcholesterol: a critical assessment of direct measurement by homogeneous assays vs calculation. *Clin Chem* 2002; 48:236 –54

Neri BP, Frings CS. Improved Method for Determination of Triglycerides in Serum. *Clin Chem* 1973; 19:1201–2.

Nicholson WE, et al. Rapid Radioimmunoassay for Corticotropin in Unextracted Human Plasma. *Clin Chem* 1984; 30:259– 65.

Nishino T. Glucagon RIA with use of Antiserum to Glucagon C-Terminal Fragment. *Clin Chem* 1981; 27:1690 –7.

Nomoto S, Sunderman FW Jr. Atomic Absorption Spectrometry of Nickel in Serum, Urine, and Other Biological Materials. *Clin Chem* 1970; 16:477– 85.

Nussbaum SR, et al. Highly Sensitive Two-Site Immunoradiometric Assay of Parathyrin, and Its Clinical Utility in Evaluating Patients with Hypercalcemia. *Clin Chem* 1987; 33:1364 – 7.

O'Donnell MD, et al. Differential Serum Amylase Determination by Use of An Inhibitor, and Design of a Routine Procedure. *Clin Chem* 1977; 23:560–6.

Ockene IS, et al. Variability and classification accuracy of serial high-sensitivity c-reactive protein measurements in healthy adults. *Clin Chem* 2001; 47: 444–50.

Olsson T, et al. Improved Detection of Oligoclonal IgG in Cerebrospinal Fluid by Isoelectric Focusing in Agarose, Double-Antibody Peroxidase Labeling, and Avidin-Biotin Amplification. *Clin Chem* 1984; 30: 1246–9.

Pandian MR, et al. Modified Immunoradiometric Assay of Parathyroid Hormone-Related Protein: Clinical Application in the Differential Diagnosis of Hypercalcemia. *Clin Chem* 1992; 38: 282– 8.

Parra HJ, et al. Lp(a) Lipoprotein in Patients with Chronic Renal Failure Treated by Hemodialysis. *Clin Chem* 1987; 33:721).

Peacock AC, et al. Data Processing in Clinical Chemistry. *Clin Chem* 1965; 11: 595– 611.

Peters T Jr. Proposals for Standardization of Total Protein Assays. *Clin Chem* 1968; 14:1147–59.

Pettigrew AR, Fell GS. Simplified Colorimetric Determination of Thiocyanate in Biological Fluids, and its Application to Investigation of the Toxic Amblyopias. *Clin Chem* 1972; 18:996 –1000.

Pileggi VJ, Kessler G. Determination of Organic Iodine Compounds in Serum. IV. A New Nonincineration Technic for Serum Thyroxine. *Clin Chem* 1968; 14:339–47.

Pippenger C, Gillen HW. Gas Chromatographic Analysis for Anticonvulsant Drugs in Biologic Fluids. *Clin Chem* 1969; 15:582–90.

Plebani, Piva: Medical errors: Pre-analytical issue in patient safety *J Med Biochem* 30: 310–314, 2011

Poon LLM, et al. Rapid diagnosis of a coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome (SARS). *Clin Chem* 2003; 49:953–5.

Pourfarzaneh M, et al. Cortisol Directly Determined in Serum by Fluoroimmunoassay with Magnetizable Solid Phase. *Clin Chem* 1980; 26:730 –3.

Price Ch. Evidence-based Laboratory Medicine: Supporting Decision-Making Clinical Chemistry 46:8 1041–1050 (2000)

Price CP. Evidence-based laboratory medicine: supporting decision-making. *Clin Chem* 2000; 46:1041–50.

Prior TW, et al. Use of DNA Probes in Detecting Carriers of Duchenne Muscular Dystrophy: Selected Case Studies. *Clin Chem* 1989; 35:679–83).

Proelss HF, et al. High-Performance Liquid-Chromatographic Simultaneous Determination of Commonly Used Tricyclic Antidepressants. *Clin Chem* 1978; 24:1948 –53.

Pybus J, Bowers GN Jr. Measurement of Serum Lithium by Atomic Absorption Spectroscopy. *Clin Chem* 1970; 16: 139– 43.

Pybus J, et al. Measurement of Total Calcium in Serum by Atomic Absorption Spectrophotometry, with Use of a Strontium Internal Reference. *Clin Chem* 1970; 16:99 –1007.

R.A. LLeS, et al. Use of proton nuclear magnetic resonance spectroscopy in detection and study of organic acidurias. *Clin Chem* 1985; 31: 1795–801.

R.Robert Clinical Chemistry through Clinical Chemistry: A Journal Timeline *Clinical Chemistry* 2004 2415– 58

Radin N. What Is a Standard? *Clin Chem* 1967; 13:55 – 76.

RamN et al Determining and Interpreting the Accuracy of a Test *CURRENT SURGERY*• Volume 63/Number 3 • May/June 2006

Rand RN. Practical Spectrophotometric Standards. *Clin Chem* 1969; 15:839–63.

Rasmussen K. Age- and Gender- Specific Reference Intervals for Total Homocysteine and Methylmalonic Acid in Plasma Before and After Vitamin Supplementation *Clin Chem* 1996; 42:630–6.

Raymond S, Nakamichi M. Gel Electrophoresis. *Clin Chem* 1962; 8:471– 4.

Raymond S. A Convenient Apparatus for Vertical Gel Electrophoresis. *Clin Chem* 1962; 8:455– 70.

Reed AH, et al. Influence of Statistical Method Used on the Resulting Estimate of Normal Range. *Clin Chem* 1971; 17:275– 84.

Refsum H, et al. Fully Automated Fluorescence Assay for Determining Total Homocysteine in Plasma. *Clin Chem* 1989; 35: 1921– 7.

Refsum H, et al. Radioenzymic Determination of Homocysteine in Plasma and Urine. *Clin Chem* 1985; 31:624–8.

RefsumH, et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem* 2004; 50:3–32.

Richmond W. Preparation and Properties of a Cholesterol Oxidase from *Nocardia* Sp. and its Application to the Enzymatic Assay of Total Cholesterol in Serum. *Clin Chem* 1973; 19:1350–6.

Rifai N, et al. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin Chem* 1999; 45:2136–41.

Rifai N, et al. Proposed cardiovascular risk assessment algorithm using high-sensitivity C-reactive protein and lipid screening. *Clin Chem* 2001; 47: 28–30.

Rifai N, King ME. Immunturbidimetric Assays of Apolipoproteins A, AI, AII, and B in Serum. *Clin Chem* 1986; 32:957– 61).

Rifai N, Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: a novel and promising marker of coronary heart disease. *Clin Chem* 2001; 47:403–11

Risteli J, et al. Radioimmunoassay for the Pyridinoline Cross-Linked Carboxy-Terminal Telopeptide of Type I Collagen: a New Serum Marker of Bone Collagen Degradation. *Clin Chem* 1993; 39:635– 40.

Roberts WL. et al. Evaluation of nine automated highsensitivity c-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. *Clin Chem* 2001; 47:418 –25.

Robinson MR, et al. Noninvasive Glucose Monitoring in Diabetic Patients: a Preliminary Evaluation. *Clin Chem* 1992; 38: 1618–22.

Robinson RL, Watts DT. An Automated Trihydroxyindole Procedure for the Differential Analysis of Catecholamines. *Clin Chem* 1965; 11:986 –97.

Rosalki SB, Foo AY Two New Methods for Separating and Quantifying Bone and Liver Alkaline Phosphatase Isoenzymes in Plasma. *Clin Chem* 1984; 30:1182– 6.

Rosenberg JC, Rush BF. An Enzymatic-Spectrophotometric Determination of Pyruvic and Lactic Acid in Blood. *Clin Chem* 1966; 12:299 –307.

Rosevear JW, et al. Glucose Oxidase Method for Continuous Automated Blood Glucose Determination. *Clin Chem* 1969; 15:680 –98.

S. Ashakiran et al A study of pre-analytical variables in clinical biochemistry laboratory *Clinical Biochemistry* 44 (2011) 944–945

Sacks DB, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2002; 48:436 –72.

Saifer A, et al. Rapid System of Microchemical Analysis for the Clinical Laboratory. *Clin Chem* 1958; 4:127– 41.

Saifer A, et al. Rapid System of Microchemical Analysis for the Clinical Laboratory. *Clin Chem* 1958; 4:127– 41

Sanz MC. Ultramicro Methods and Standardizations of Equipment. *Clin Chem* 1957; 3:406 – 19.

Savory J. Kaplan A. A Gas Chromatographic Method for Determination of Lactic Acid in Blood. *Clin Chem* 1966; 12:559–69

Sawchuk RJ, Cartier LL. Liquid-Chromatographic Determination of Cyclosporine A in Blood and Plasma. *Clin Chem* 1981; 27:1368 –71.

Sax SM, Moore JJ. Fluorometric Measurement of Creatine Kinase Activity. *Clin Chem* 1965; 11: 951–8.

Schneider RG. Differentiation of Electrophoretically Similar Hemoglobins – such as S, D, G, and P; or A2, C, E, and O – by Electrophoresis of the Globin Chains. *Clin Chem* 1974; 20:1111–5.

Schneider RS, et al. Homogeneous Enzyme Immunoassay for Opiates in Urine. *Clin Chem* 1973; 19: 821–5.

Schoen I, How Broad is (Should Be) the Kit Producer's Responsibility for Supplying "Normal" Values? *Clin Chem*, Vol. 23, No. 7, 1977

Scott CD. Analysis of Urine for its Ultraviolet-Absorbing Constituents by High- Pressure Anion-Exchange Chromatography. *Clin Chem* 1968; 14:521– 8.

Seidel D, et al. Improved Techniques for Assessment of Plasma Lipoprotein Patterns. I. Precipitation in Gels after Electrophoresis with Polyanionic Compounds. *Clin Chem* 1973; 19:737 – 9.

Shipchandler MT, Moore EG. Rapid, Fully Automated Measurement of Plasma Homocyst(e)ine With the Abbott IMx Analyzer. *Clin Chem* 1995; 41:991–4.

Shoup RE, Kissinger PT. Determination of Urinary Normetanephrine, Metanephrine, and 3 Methoxytyramine by Liquid Chromatography, with Amperometric Detection. *Clin Chem* 1977; 23:1268 –74.

Sidney K et, al A Small Automated High Resolution Analyzer for Determination of Carbohydrates in Body Fluids1 *CLINICAL CHEMISTRY* 1971: , Vol. 17, No. 8, 1971

Sidney Katz. A Small, Automated High-Resolution Analyzer for Determination of Carbohydrates in Body Fluids *CLINICAL CHEMISTRY*, Vol. 17, No. 8, 1971

Silber RH, et al. Practical Procedure for Estimation of Corticosterone and Hydrocortisone *Clin Chem* 1958; 4: 278–85.

Silber RH, et al. Practical Procedure for Estimation of Corticosterone and Hydrocortisone *Clin Chem* 1958; 4: 278–85.

Silverman LM, et al. Creatine kinase BB: a New Tumor-Associated Marker. *Clin Chem* 1979; 25: 1432–5.

Singer RB, et al. Simultaneous Determination of pH, CO₂ Content, and Cell Volume in 0.1 mL Aliquots of Cutaneous Blood: a Modification of the Shock and Hastings Technic. *Clin Chem* 1955; 1: 287– 316.

Skeggs LT, Hochstrasser H. Multiple Automatic Sequential Analysis. *Clin Chem* 1964; 10:918 –36.

Sobolewski G, Nadeau G. A Scheme for the Rapid Identification in Urine of Commonly Used Sedatives, Hypnotics, and Tranquilizers. *Clin Chem* 1960;6:153 – 61.

Soini E, Kojola H. Time-resolved Fluorometer for Lanthanide Chelates-a New Generation of Nonisotopic Immunoassays. *Clin Chem* 1983; 29:65– 8.

Somogyi M. Modifications of Two Methods for the Assay of Amylase. *Clin Chem* 1960; 6: 23– 35.

Spayd RW, et al. Multilayer film elements for clinical analysis: applications to representative chemical determinations. *Clin Chem* 1978; 24: 1343– 50.

Spencer C, et al. Specificity of Sensitive Assays of Thyrotropin (TSH) Used to Screen for Thyroid Disease in Hospitalized Patients. *Clin Chem* 1987; 33: 1391– 6.

Sprecher DL, et al. Two-Dimensional Electrophoresis of Human Plasma Apolipoproteins. *Clin Chem* 1984; 30:2084 –92.

Stein J, et al. Immunoreactive Elastase I: Clinical Evaluation of a New Noninvasive Test of Pancreatic Function. *Clin Chem* 1996; 42:222– 6.

Steinman CR. Use of Nucleic Acid Hybridization for Specific Detection of Submicrogram Quantities of DNA, and its Application to Human Plasma. *Clin Chem* 1975; 21:407–11.

Sternberg JC. A Rate Nephelometer for Measuring Specific Proteins by Immunoprecipitation Reactions. *Clin Chem* 1977; 23: 1456–64.

Stoner RE, Weisberg HF. Ultramicro Method for Serum Bilirubin by Diazo Blue Reaction. *Clin Chem* 1957; 3:22– 36.

Sturgeon C. Practice guidelines for tumor marker use in the clinic. *Clin Chem* 2002; 48: 1151–9.

Sun Y, et al. A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase. *Clin Chem* 1988; 34:497–500

Sutherland RM, et al. Optical Detection of Antibody-Antigen Reactions at a Glass-Liquid Interface. *Clin Chem* 1984; 30:1533 – 8.

Swaim WR, Feders MB. Fibrinogen Assay. *Clin Chem* 1967; 13:1026–8.

Szasz G. A Kinetic Photometric Method for Serum Gamma-Glutamyl Transpeptidase. *Clin Chem* 1969; 15:124–36.

Tanaka K, et al. Gas-Chromatographic Method of Analysis for Urinary Organic Acids. I. Retention Indices of 155 Metabolically Important Compounds. *Clin Chem* 1980; 26:1839 – 46.

Teppo AM, Maury CP. Radioimmunoassay of Tumor Necrosis Factor in Serum. *Clin Chem* 1987; 33: 2024–7.

The FDA Clarifies its Role in Regulation of Diagnostic Kits (*Clin Chem* 1974; 20:9248)

Thiers RE, et al. A Multichannel Continuous Flow Analyzer. *Clin Chem* 1966; 12:120 –36.

Thurnham DI, et al. Concurrent Liquid-Chromatographic Assay of Retinol, α -Tocopherol, β -Carotene, α Carotene, Lycopene, and β -Cryptoxanthin in Plasma, with Tocopherol Acetate as Internal Standard. *Clin Chem* 1988; 34: 377– 81.

Tiffany TO, et al. Feasibility of Multiple Simultaneous Enzyme Assays, for Diagnostic Purposes, with the GeMSAEC Fast Analyzer. *Clin Chem* 1971; 17:715–20.

Tonks DB. A Study of the Accuracy and Precision of Clinical Chemistry Determinations in 170 Canadian Laboratories. *Clin Chem* 1963;9: 217– 33.

Turnell DC, Cooper JD. Rapid Assay for Amino Acids in Serum or Urine by Pre-Column Derivatization

Unsuitable samples in clinical laboratories *Clin Chem Lab Med* 2007;45(6):728–736

Urdal P, Landaas S. Macro Creatine Kinase BB in Serum, and Some Data on its Prevalence. *Clin Chem* 1979; 25: 461–5.

Van Handel E. Suggested Modifications of the Micro Determination of Triglycerides. *Clin Chem* 1961; 7: 249– 51.

Vogel WC, Zieve L. A Rapid and Sensitive Turbidimetric Method for Serum Lipase Based upon Differences between the Lipases of Normal and Pancreatitis Serum. *Clin Chem* 1963; 9:168 – 81.

Wallace J. Simultaneous Spectrophotometric Determination of Phenytoin and Phenobarbital in Biologic Specimens. *Clin Chem* 1969; 15:323–30.

Warnick GR, Albers JJ. Heparin–Mn²⁺ Quantitation of High-Density-Lipoprotein Cholesterol: an Ultrafiltration Procedure for Lipemic Samples. *Clin Chem* 1978; 24: 900–4.

Warnick GR, et al. Comparison of Current Methods for High-Density Lipoprotein Cholesterol Quantitation. *Clin Chem* 1979; 25:596–604.

Warnick GR, et al. Gel Isoelectric Focusing Method for Specific Diagnosis of Familial Hyperlipoproteinemia Type 3. *Clin Chem* 1979; 25:279–84.

Wasowicz W, et al. Optimized Steps in Fluorometric Determination of Thiobarbituric Acid-Reactive Substances in Serum: Importance of Extraction pH and Influence of Sample Preservation and Storage. *Clin Chem* 1993; 39:2522– 6.

Weeks I, et al. Acridinium Esters as High-Specific-Activity Labels in Immunoassay. *Clin Chem* 1983; 29:1474 –9.

Wellmann S, et al. Specific reverse transcription-PCR quantification of vascular endothelial growth factor (VEGF) splice variants by LightCycler technology. *Clin Chem* 2001; 47: 654–60.

Werner ER, et al. Determination of Neopterin in Serum and Urine. *Clin Chem* 1987; 33: 62– 6.

Werner ER, et al. Simultaneous Determination of Neopterin and Creatinine in Serum with Solid-Phase Extraction and On-Line Elution Liquid Chromatography. *Clin Chem* 1987; 33:2028 –33.

Westgard J. Managing quality vs. measuring uncertainty in the medical Laboratory Clin Chem Lab Med 2010;48(1); 31-40 by Walter de Gruyter. Berlin. New York DOI 10.1515/CCLM.2010.024

Whicher JT, et al. New International Reference Preparation for Proteins in Human Serum (RPPHS). *Clin Chem* 1994; 40: 934–8].

Whitehead TP, et al. Effect of Red Wine Ingestion on the Antioxidant Capacity of Serum. *Clin Chem* 1995; 41:32–5.

Williamson R. Molecular Genetics and the Transformation of Clinical Chemistry. *Clin Chem* 1989; 35: 2165– 8

Wong P, et al. Micromethods for Measuring Phenylalanine and Tyrosine in Serum. *Clin Chem* 1964; 10:1098 – 104.

Wootton ID. Standardization in Clinical Chemistry. *Clin Chem* 1957; 3: 401– 5.

Wootton IDP. Wootton IDP. International Biochemical Trial 1954. *Clin Chem* 1956; 2:296 – 301.

Wu AH, et al. Cardiac Troponin-T Immunoassay for Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. *Clin Chem* 1994; 40:900 –7).

Wu AHB, et al. Characterization of cardiac troponin subunit release into serum after acute myocardial infarction and comparison of assays for troponin T and I. *Clin Chem* 1998; 44:1198 –208).

Wu AHB, et al. National Academy of Clinical Biochemistry laboratory medicine practice guidelines: recommendations for the use of laboratory tests to support poisoned patients who present to the emergency department. *Clin Chem* 2003; 49:357–79.

Wu AHB, et al. National Academy of Clinical Biochemistry standards of laboratory practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases. *Clin Chem* 1999;45:1104 21

Wu LL, et al. Plasma Homocyst (e) ine as a Risk Factor For Early Familial Coronary Artery Disease *Clin Chem* 1994;40:552 – 61.

Wurm M, Epstein FH. Quantitative Electrophoresis of Serum Proteins on Paper. *Clin Chem* 1956; 2: 303– 19.

Yasmineh WG, Hanson NQ. Electrophoresis on Cellulose Acetate and Chromatography on DEAE-Sephadex A-50 Compared in the Estimation of Creatine Kinase Isoenzymes. *Clin Chem* 1975;21:381 – 6.

Yatscoff RW, et al. Abbott TDx Monoclonal Antibody Assay Evaluated for Measuring Cyclosporine in Whole Blood. *Clin Chem* 1990; 36:1969 – 73.

Young D. S. Biological and Analytic Component of Variation in Long-Term Studies of Serum Constituent in Normal Subjects IV. Results of a Study Designed to Eliminate Long-Term Analytic Deviations *Clin Chem* 1970; 16:1016 –21; 1022–7; 1028–32.

Young DS, et al. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. *Clin Chem* 1972; 18: 1041–303.

Young DS, Mears TW. Measurement and Standard Reference Materials in Clinical Chemistry. *Clin Chem* 1968; 14:929– 43.

Yu H, Diamandis EP. Ultrasensitive Time-Resolved Immunofluorometric Assay of Prostate-Specific Antigen in Serum and Preliminary Clinical Studies. *Clin Chem* 1993; 9:2108 –14.

Zettner A, Seligson D. Application of Atomic Absorption Spectrophotometry in the Determination of Calcium in Serum. *Clin Chem* 1964; 10: 869 –90.

Zettner A. Principles of Competitive Binding Assays (Saturation Analysis). 1. Equilibrium Techniques. *Clin Chem* 1973; 19:699 –705.

Zhou AM, et al. Multiple Forms of Prostate-Specific Antigen in Serum: Differences in Immunorecognition by Monoclonal and Polyclonal Assays. *Clin Chem* 1993; 39:2483 – 91.

Zytkovicz TH, et al. Tandem mass spectrometric analysis for amino, organic, and fatty acid disorders in newborn dried blood spots: a two-year summary from the New England newborn screening program. *Clin Chem* 2001; 47:1945–55.

Clinical Chemistry through Clinical Chemistry: A Journal Timeline *Clinical Chemistry* 2004 2415– 58